Aus dem Zentrum der Physiologie
der J. W. Goethe Universität Frankfurt am Main
Abteilung für Elektrophysiologie
(Leiter: Prof. Dr. R. Klinke)

Elektrophysiologische Untersuchungen über die ototoxische Wirkung von Schleifendiuretica

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
des Fachbereichs Humanmedizin der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Alexander Roesch

Darmstadt, 1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523705_0035

Aus dem Zentrum der Physiologie
der J. W. Goethe Universität Frankfurt am Main
Abteilung für Elektrophysiologie
(Leiter: Prof. Dr. R. Klinke)

Elektrophysiologische Untersuchungen über die ototoxische Wirkung von Schleifendiuretica

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
des Fachbereichs Humanmedizin der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Alexander Roesch

Darmstadt, 1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. H. J. Müller

Referent: Prof. R. Klinke

Koreferent: Prof. F. Kreter

Tag der mündlichen Prüfung

7.6.83 und 3.8.83

Inhaltsverzeichnis

I ZUSAMMENFASSUNG

II EINLEITUNG

1) Anatomie der Cochlea
2) Physiologie des Innenohrs
3) Cochleäre Flüssigkeiten
4) Elektrophysiologische Befunde an der Cochlea
5) Welche Angriffspunkte ototoxischer Pharmaka sind denkbar?
6) Welche Pharmaka sind ototoxisch?
7) Nachweis ototoxischer Nebenwirkungen

III METHODIK

1) Präparation des Versuchstiers
2) Versuchsdurchführung
   a) Akustische Reizung und Signalverarbeitung
   b) Applikation und Dosierung der Pharmaka
   c) Auswertung der Ergebnisse

IV. ERGEBNISSE

1) Vorversuch OT-0
2) Furosemid (FUR)
3) Piretanid (PIR)
4) Bumetanid (BUM)
5) Ozolinon (OZO)
6) Azosemid (AZO)

V. DISKUSSION

1) Versuche mit FUR, PIR und BUM

a) Vergleich der therapeutischen Breite von FUR, PIR, BUM
b) Zeitlicher Verlauf der ototoxischen Wirkung
c) Bezug ototoxische Wirkung-Serumspiegel
d) Beeinflussung der Kreislaufregulation

2) Vorversuche mit FUR, PIR und BUM

3) Versuche mit OZO und AZO

4) Allgemeine Diskussion über den Wirkungsmechanismus ototoxischer Schleifendiuretica, unter Mitberücksichtigung eigener Befunde

VI. LITERATURVERZEICHNIS

I Zusammenfassung

Die akut ototoxische Wirkung verschiedener Schleifendiuretica wurde in vorliegender Arbeit untersucht. OZOLINON und AZOSEMID wurden qualitativ auf ototoxische Wirkungen hin getestet, die ototoxische Wirkung von FUROSEMID, PIRETANID und BUMETANID wurde quantitativ miteinander verglichen. Als Kriterium für die Beurteilung der ototoxischen Wirkung diente die Amplitude des cochleären Aktionspotentials (CAP), welches bei einem Schalldruck von 30 dB über der visuell festgestellten CAP-Schwelle registriert wurde (Standard-CAP genannt).
Es konnte gezeigt werden, daß das diuretisch wirksame Isomer von OZOLINON auch ototoxische Wirkungen hat, nicht dagegen das diuretisch unwirksame. Auch AZOSEMID zeigte ototoxische Wirkungen.

Für FUROSEMID, PIRETANID und BUMETANID wurde die ED_{50} bestimmt, wobei als "Effekt" die totale Unterdrückung des Standard-CAP angesehen wurde. Bezogen auf eine diuretisch äquipotente Dosis aller drei Pharmaka ist die therapeutische Breite am kleinsten bei BUMETANID, am größten bei PIRETANID, d.h. die Gefahr des Auftretens ototoxischer Wirkungen ist bei BUMETANID höher als bei FUROSEMID, bei diesem wiederum höher als bei PIRETANID einzuschätzen. Zwischen den ED_{50} von FUROSEMID, PIRETANID und BUMETANID besteht ein signifikanter Unterschied auf dem 1 ‰ - Niveau.
Das nach Applikation der hier untersuchten Pharmaka beobachtete uneinheitliche Verhalten der cochleären Mikrophonpotentiale (CM), die bei einem Teil der Versuche zusammen mit dem CAP registriert wurden, zeigt die Unbrauchbarkeit der CM als Parameter eines Hörschadens, nur das CAP kann Auskunft geben über den Informationstransfer vom Innenohr zu höheren auditorischen Zentren.

II. EINLEITUNG

1.) Anatomie der Cochlea

Die Cochlea (Schnecke) ist ein spiralig gewundener Gang, der sich um die knöcherne Schneckenspindel (Modiolus) windet, und in drei flüssigkeitsgefüllte Kompartimente unterteilt ist: Oben liegt die Scala vestibuli, die begrenzt ist durch das ovale Fenster (auf dem der Stapes sitzt) und Perilymphe enthält. Unten liegt die Sc. tympani, die durch das runde Fenster begrenzt ist, und ebenfalls Perilymphe enthält. Sc. tympani und Sc. vestibuli kommunizieren an der Schneckenspitze (Helicotrema). Mittlerer Abschnitt ist die Scala media, die Endolymphe enthält (an der äußeren Wand der Sc. med. befindet sich eine stark vascularisierte Region, Stria vascularis genannt). Bei den Haarzellen handelt es sich um sekundäre Sinneszellen. An den Zellen endende afferente Fasern stammen von den Nervenzellen des Ggl. spirale, welche im Modiolus liegen. Die afferenten Fasern ziehen durch Öffnungen (Habenula perforata) in der Lamina spiralis, einer vom Modiolus in den Schneckengang vorspringenden Knochenleiste, zum Ganglion spirale. (Eine Übersicht findet sich in BERENDES, LINK, ZÖLLNER, 1965).

An den afferenten Fasern und Haarzellen endende efferente Fasern entstammen dem gekreuzten und ungekreuzten olivocochleären Bündel (RASMUSSEN, 1960) sowie dem reticulocochleären Bündel (ROSSI, 1962). Die Scala media ist nach oben (gegen die Sc. vest.) durch die Reissner'sche Membran abgegrenzt, nach unten (gegen die Sc. tymp.) durch die Basilarmembran, welche das Corti-Organ trägt. Dieses besteht aus Sinneszellen (3 Reihen äußerer und 1 Reihe innerer Haarzellen, so bezeichnet, da sie Stereozilien tragen) und Stützzellen. Die die äußeren Haarzellen stützenden Zellen heißen Deiters'sche Zellen (äußere Phalangenzellen); Fortsätze dieser Zellen steigen zwischen den Sinneszellen nach oben und bilden mit ihren apikalen Enden eine netzförmige Membran (membrana reticularis), in deren

Öffnungen auch die oberen Enden der Haarzellen liegen. Die die inneren Haarzellen stützenden Zellen heißen innere Phalangealzellen.

Auf Sinnes- und Stützzellen liegt eine aus Mucopolysacchariden bestehende Membran, die Membrana tectoria.

2.) Physiologie des Innenohrs

Die mechanischen Eigenschaften des Systems cochleäre Flüssigkeiten-Skalentrennwand (engl. "cochlear partition", d.h. der von Reissner- u. Basilarmembran begrenzte Raum) untersuchte von BÉKÉSY (1960) an Leichenohren. Aus seinen Beobachtungen entwickelte er die Wanderwellenhypothese, die folgendes besagt: Schallreize am Ohr führen zu Bewegungen des Stapes und damit des ovalen Fensters. Da Flüssigkeiten als inkompressibel angesehen werden können, kommt es zu einer Volumenverschiebung, die erstens eine Bewegung des runden Fensters bewirkt, zweitens eine Wanderwelle auslöst, welche die Skalentrennwand in Richtung Helicotrema entlangläuft. Die maximale Auslenkung dieser Wanderwelle liegt für tiefe Frequenzen mehr in Richtung zum Helicotrema, für hohe Frequenzen in Richtung zum Stapes.

ELDREDGE (1974) stellte fest, daß bei konstantem Schalldruck und Erhöhung der Frequenz die Auslenkung der Basilarmembran ab einer bestimmten Frequenz stark abnimmt, die Membran also Tiefpassfilter-Charakteristik hat.

KHANNA und LEONARD (1982) sowie SELLICK, PATUZZI und JOHNSTONE (1982) konnten jedoch zeigen, daß die Basilarmembran eine sehr deutlich ausgeprägte Frequenzselektivität aufweist: Der Schalldruck, der erforderlich war, um eine bestimmte Auslenkung der Basilarmembran zu bewirken, wurde als Funktion der Frequenz aufgetragen. Die Kurve wies ei-

nen sehr scharf abgestimmten Teil auf, d.h. bei einer (vom Meßpunkt auf der Basilarmembran abhängigen) charakteristischen Frequenz war nur ein sehr geringer Schalldruck erforderlich, um die gewünschte Auslenkung der Basilarmembran zu erreichen. Diese Frequenzabstimmung (Tuning) ist für die inneren Haarzellen und die primär afferenten Fasern bereits länger bekannt (siehe später).

Durch die Bewegungen der Skalentrennwand (und damit der Basilarmembran) kommt es zu einer Verschiebung der Membrana tectoria gegenüber der Basilarmembran, die Zilien werden abgeschert, da sie fest mit der Membrana tectoria verbunden sind (SPOENDLIN, 1966; HOSHINO, 1974); die Abscherung der Zilien stellt einen adäquaten Reiz für die Haarzellen dar. Der Prozeß der Transduktion konnte bis heute noch nicht an cochleären Haarzellen des Säugers untersucht werden. HUDSPETH und COREY (1977) untersuchten vestibuläre Haarzellen vom Ochsenfrosch und stellten fest, daß je nach Richtung, in der die Zilien abgeschert wurden, eine Depolarisation (und ein Absinken des Membranwiderstandes) oder Hyperpolarisation (und ein Anstieg des Membranwiderstandes) der Haarzelle resultierte. Weitere Untersuchungen am gleichen Objekt (COREY und HUDSPETH, 1979) sowie Befunde an cochleären Haarzellen der Schildkröte (CRAWFORD und FETTIPLACE, 1979) legen die Vermutung nahe, daß durch eine Depolarisation der Haarzelle die Permeabilität der apikalen Zellmembran für Ionen unspezifisch erhöht wird. Treibende Kraft für den Strom ist die hohe Potentialdifferenz zwischen Innerem der Haarzelle und Endolymphraum (Batterietheorie von DAVIS, 1965,1968). Das Potential im Endolymphraum, endocochleäres Potential genannt (siehe später), beträgt ca. +80 mV gegenüber der Scala vestibuli (von BÉKÉSY, 1952), das intrazelluläre Potential von inneren Haarzellen liegt bei -45 mV bis -25 mV (RUSSELL und SELLICK, 1978). RUSSELL und SELLICK beobachteten als Antwort auf einen Schallreiz eine intrazelluläre Depolarisation, außerdem Wechselspannungspotentiale, die dem Schalldruckverlauf folgten und wahrscheinlich den extrazellulär ableitbaren cochleären Mikro-

phonpotentialen (siehe später) entsprechen. Der Schalldruck, der erforderlich war, um eine konstante Amplitude dieser Wechselspannungspotentiale zu erreichen, wurde als Funktion der Frequenz aufgetragen. So konnten RUSSELL und SELLICK zeigen, daß die Zelle bei einer bestimmten Frequenz besonders empfindlich reagiert, also Tuning-Eigenschaften besitzt.

An der Basis der Haarzellen enden stark granulierte efferente und wenig granulierte afferente Fasern (ENGSTRÖM et al., 1965).

Gegenüber den Endigungen der afferenten Fasern finden sich in der Haarzelle synaptic bars (elektronenoptisch dichtere Strukturen), von Vesikeln umgeben, die vermutlich eine Transmittersubstanz enthalten (FINLAYSON und OSBORNE, 1975). Der Aufbau der präsynaptischen Strukturen läßt vermuten, daß es sich um eine "high gain"-Synapse handelt, die bereits durch geringfügige Depolarisation aktiviert wird (LLINAS, 1979). Die Transmittersubstanz ist noch nicht bekannt.

Das Aktionspotential in der afferenten Faser entsteht vermutlich erst dort, wo sie eine Markscheide besitzt, nämlich jenseits der Habenula perforata (RUSSELL und SELLICK, 1978).

Einzelfaserableitungen von afferenten Fasern zeigen, daß diese eine scharfe Frequenzabstimmung besitzen (siehe Abb. 1, EVANS und KLINKE, unveröffentlicht). Die große Mehrzahl (90 - 95 %) der afferenten Fasern enden an den inneren Haarzellen (SPOENDLIN, 1972; MORRISON et al., 1975).

Ein unterschiedliches neurophysiologisches Verhalten der von den Haarzellen kommenden Fasern wurde noch nicht beobachtet. Werden die äußeren Haarzellen selektiv durch Kanamycin geschädigt, verlieren die Einzelfasern an Sensitivität und Frequenzselektivität (ROBERTSON und JOHNSTONE, 1979). Es wird daher eine Interaktion zwischen den äußeren

und inneren Haarzellen diskutiert (siehe z.B. ZWISLOCKI und KLETSKY, 1980; ALLEN, 1980); durch welche die äußeren Haarzellen zu Sensitivität und Frequenzselektivität der inneren Haarzellen beitragen sollen.

3.) Cochleäre Flüssigkeiten

Endolymphe

Der Endolymphraum ist nach allen Seiten hin durch tight junction-Zellkontakte dicht abgeschlossen, welche eine Barriere für Ionenflüsse darstellen (SMITH, 1978). Die Endolymphe ähnelt in ihrer Zusammensetzung einer intrazellulären Flüssigkeit. SMITH et al. (1954) fanden eine K^+-Konzentration von 150 mM und eine Na^+-Konzentration von 40 mM in der Endolymphe. JOHNSTONE und SELLICK (1972) stellten eine niedrigere Na^+-Konzentration fest (2 mM).

Man nimmt an, daß die Endolymphe von der Stria vascularis sezerniert wird. Dafür sprechen Ergebnisse morphologischer Untersuchungen (JOHNSON u. SPOENDLIN, 1966; REALE et al., 1975), zum zweiten die Tatsache, daß die Stria vascularis eine hohe Konzentration an Enzymen des Citrat-Cyclus (THALMANN et al., 1975) und einen hohen O_2-Verbrauch aufweist (CHOU u. HUGHES, 1964), zum dritten ist in der Stria vascularis die Aktivität von Enzymen hoch, von denen bekannt ist, daß sie in verschiedenen Geweben für sekretorische Funktionen mit verantwortlich sind: Na^+/K^+-ATPase, Carboanhydrase, und Adenylatcyclase. Die Aktivität der Na^+/K^+-ATPase ist in der Stria vascularis ca. 12 mal höher als in anderen Strukturen der Cochlea (KUIJPERS und BONTING, 1969). MAREN et al. (1975) beobachteten, daß sich die Akkumulation von HCO_3^- in der Endolymphe bei Hemmung der Carboanhydrase durch Acetazolamid verlangsamte. Sie entwarfen ein Modell, das die Produktion der Endolymphe mit der Bildung von HCO_3^- (durch Carboanhydrase katalysiert) und dem Transport von K^+ (durch Na^+/K^+-ATPase katalysiert) erklärt.

Cholera-Toxin, welches in Epithelzellen einen starken Anstieg des c-AMP-Spiegels bewirkt (PIERCE et al., 1971; SAHYOUN und CUATRECASAS, 1975), führt in der Cochlea zu einem signifikanten Anstieg der Endolymphproduktion, ohne daß sich die Elektrolyt-Konzentration in der Endolymphe ändert (FELDMAN und BRUSILOW, 1976).

Perilymphe

Die Perilymphe ähnelt in ihrer Zusammensetzung einer extrazellulären Flüssigkeit. BOSHER und WARREN (1968) fanden eine hohe Na^+-Konzentration (140 mM) und eine niedrige K^+-Konzentration (7 mM) in der Perilymphe.

Man nimmt an, daß die Perilymphe ein Ultrafiltrat der Capillaren des Perilymphraums darstellt. Darauf weist schon die im Vergleich zum Serum sehr niedrige Protein-Konzentration in der Perilymphe hin (SILVERSTEIN, 1966). Nach Untersuchungen von SCHNIEDER (1974) befindet sich ein äußerst fein verzweigtes Netzwerk von Capillaren in einem maschenartig verfilzten Bindegewebe. Das Capillarendothel ist nach Erkenntnissen von JUHN et al. (1976) nicht gefenstert; dies könnte das morphologische Substrat der Blut-Perilymph-Schranke darstellen.

Ein Modell von KELLERHALS (1976), welches auf Befunden am Meerschweinchen beruht, besagt, daß die Perilymphe sowohl als Ultrafiltrat des Blutes als auch aus dem Liquor cerebrospinalis entsteht. Die Verbindung zwischen Liquorräumen und Perilymphe über den Ductus perilymphaticus ist jedoch nach Meinung von MOSCOVITCH et al. (1973) beim Primaten von untergeordneter Bedeutung.

Cortilymphe

Die Cortilymphe ist eine interstitielle Flüssigkeit zwischen den Receptorzellen des Corti-Organs; sie steht vermutlich mit der Perilymphe des Scala tympani in Verbindung (SCHNIEDER, 1974). Die Ionenzusammensetzung der Cortilymphe ähnelt der der Perilymphe (ILBERG und VOSTEEN, 1969).

Das negative Potential von ca. -40 mV, welches im Cortischen Organ gegenüber der Scala vestibuli besteht (von BÉKÉSY, 1952), scheint also eher ein Verletzungspotential der Receptorzellen zu sein als einer negativen Ladung der extrazellulären Flüssigkeit zu entsprechen (DALLOS, 1973a; FEX, 1974; JOHNSTONE u. SELLICK, 1972).

4.) Elektrophysiologische Befunde an der Cochlea

Es seien hier nur Befunde erwähnt, die in Zusammenhang mit dieser Arbeit von Bedeutung sind.

Der Endolymphraum weist gegenüber der Scala vestibuli ein positives Potential von ca. +80 mV auf, das sogenannte endocochleäre Potential (EP) (von BÉKÉSY, 1952). Die Stria vascularis scheint für seine Aufrechterhaltung verantwortlich zu sein (TASAKI und SPYROPOULOS, 1959). Nach den Befunden, die bis heute vorliegen, denkt man sich das EP aus zwei Komponenten zusammengesetzt: eine positive elektrogene Komponente, die einem aktiven K^+-Transport entspricht (SELLICK und BOCK, 1974), und einer negativen Komponente, die z.B. durch Anoxie (JOHNSTONE und SELLICK, 1972) oder hohe Dosen von Schleifendiuretica (BOSHER et al., 1973) "demaskiert" wird. Bei dieser negativen Komponente handelt es sich vermutlich um ein K^+-Diffusionspotential (BOSHER et al., 1973)

oder eine Kombination von K^+-Diffusionspotential und einem negativen elektrogenen Potential (KUSAKARI et al., 1978; SELLICK und JOHNSTONE, 1974).

Das endocochleäre Potential stellt, wie das negative Potential im Corti-Organ (s.o.), ein Bestandspotential dar, d.h. es findet sich am unbeschallten Ohr. Bei Beschallung des Ohres lassen sich das cochleäre Mikrophonpotential, das Summationspotential und das Summenaktionspotential des Hörnerven ableiten; Abb. 2 zeigt die Potentiale, welche sich bei Beschallung mit einem Click (= kurzer Rechteckimpuls am Kopfhörer) am runden Fenster ableiten lassen (aus KLINKE, 1978).

Die cochleären Mikrophonpotentiale (CM) folgen in ihrem zeitlichen Verlauf dem Schalldruck, verhalten sich also wie ein Mikrophon. Diese Beobachtung machten WEVER und BRAY schon 1930; ADRIAN (1931) interpretierte ihre Experimente und prägte den Namen "Mikrophonpotentiale". TASAKI (1954) konnte zeigen, daß die Mikrophonpotentiale an den zilientragenden Zelloberflächen der Receptorzellen entstehen. Die Mikrophonpotentiale scheinen fast ausschließlich an den äußeren Haarzellen zu entstehen (DALLOS, 1973b). Die Batterietheorie von DAVIS (s.o.) trägt zum Verständnis der Entstehung der CM bei. DAVIS betrachtet die apikale Haarzellmembran als veränderlichen Widerstand; bei Abscherung der Zilien fließt mehr Strom durch die Zelle, wodurch Potentialveränderungen im Bereich der Scala media und der Scala tympani entstehen: diese sollen den CM entsprechen.

Das Summationspotential (SP) ist ein Gleichspannungspotential. Abhängig von den Versuchsbedingungen, erscheint es als negative oder positive Potentialver-

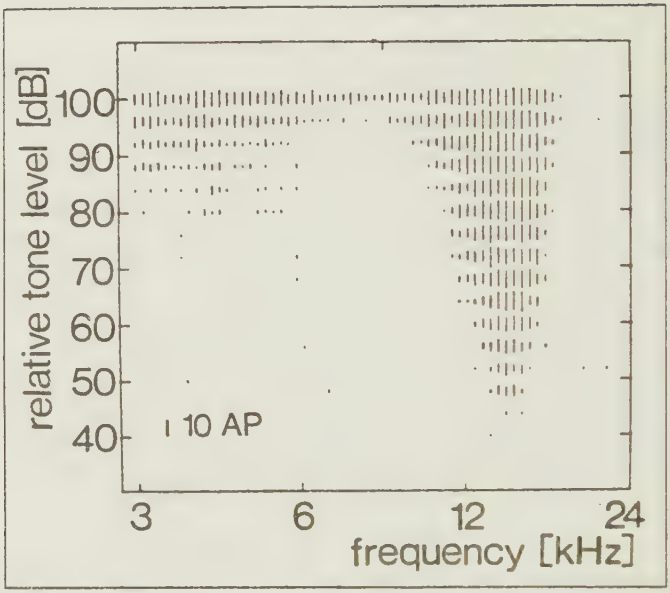


Abbildung 1 Tuningkurve (Frequenzabstimmkurve) einer einzelnen Nervenfaser der Katze. Die Strichlänge gibt die Zahl der Aktionspotentiale wieder, die durch einen Schallreiz bestimmter Frequenz (Abszisse) und Intensität (Ordinate) ausgelöst wird. Die Strichlänge für 10 Aktionspotentiale ist links unten angegeben (nach KLINKE, 1978)

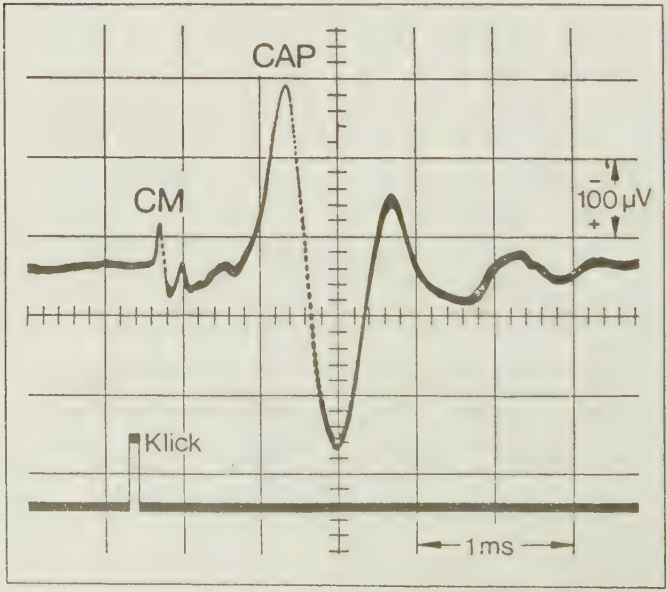


Abbildung 2 Die am runden Fenster auf einen Klickreiz ableitbaren Potentiale, Mikrophonpotential (CM) und Summenaktionspotential des Hörnervs (CAP) (nach KLINKE, 1978)

änderung der Scala media während akustischer Reizung. Seine Entstehung ist noch relativ unklar, könnte aber unter Zuhilfenahme der Batterietheorie von DAVIS erklärt werden: fließt infolge Abscherung der Zilien ein Strom durch die Haarzelle, würde das EP zu einem gewissen Grad kurzgeschlossen, also negativer werden. RUSSELL und SELLICK (1978) konnten, wie bereits erwähnt, als Antwort auf einen Schallreiz eine intrazelluläre Depolarisation der Haarzelle nachweisen; dadurch könnten auch andere Strukturen unterhalb der Lamina reticularis ein positiveres Potential erhalten. Befunde von KONISHI und YASUNO (1963) untermauern diese Vorstellung: beim Vorschieben einer Elektrode durch das Corti-Organ kehrt sich die Polarität des SP beim Erscheinen des EP um, dann also, wenn die Lamina reticularis durchdrungen ist.

Das Summenaktionspotential des Nervus acusticus (cochleäres Aktionspotential = CAP) ist Ausdruck der gleichzeitigen Aktivität vieler Neurone (TEAS et al., 1962). ANTOLI-CANDELA und KIANG (1978) stellten fest, daß nur Neurone mit einer charakteristischen Frequenz (CF) von 4 KHz und höher synchron mit den Phasen N_1 und N_2 des CAP entladen. Dieser Befund erscheint verständlich, wenn man bedenkt, daß die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Wanderwelle zum Helicotrema hin abnimmt, entsprechend der abnehmenden Steife der Basilarmembran (von BÉKÉSY, 1960). Daher werden nur die Fasern im basalen Teil der Cochlea synchron erregt.

Es sei noch auf das Verhalten der Einzelfasern bei Beschallung mit einem Click eingegangen: das Entladungsmuster der Faser in der Zeit nach Beschallung mit einem Click kann im Poststimulus-time Histogramm dargestellt werden. Dabei zeigen Fasern mit niedriger CF ein mehrgipfliges Entladungsmuster. Die Frequenz dieser Oszillation gleicht der charakteristischen Frequenz des Neurons.

Fasern mit hoher CF zeigen nur ein Maximum in der Entladungshäufigkeit (KIANG, 1965).

Die Histogramme von Einzelfasern sind weniger übersichtlich, wenn mit reinen Tönen gereizt wird, da die Fasern bereits eine gewisse Spontanaktivität aufweisen. Es scheint dabei zwei Gruppen von Fasern zu geben, die eine weist eine Spontanentladungsrate von unter 20/sec auf (die meisten 0,5/sec oder weniger), die andere von 60 - 80/sec (maximal 120/sec) (LIBERMAN und KIANG, 1978; EVANS, 1972). Bei Reizung mit einem reinen Ton folgt die Entladungsrate dem Verlauf der Sinusschwingung, jedoch entlädt die Faser nur während einer Hälfte der Periode der Schwingung, also in Abhängigkeit von der Bewegungsrichtung der Basilarmembran (ROSE et al., 1971). Es scheint, daß die Aufwärtsbewegung der Basilarmembran eine Erregung verursacht, da bei Beschallung mit einem rarefaction click (Unterdruck am Trommelfell, also Auswärtsbewegung des ovalen Fensters und Aufwärtsbewegung der Basilarmembran) der erste Entladungsgipfel mit kürzerer Latenz auftritt als bei Beschallung mit einem condensation click (Überdruck am Trommelfell). Die Entladungsgipfel bei Reizung mit condensation click liegen genau in den Intervallen zwischen den Entladungsgipfeln bei Reizung mit rarefaction click (KIANG, 1965).

5.) Welche Angriffspunkte ototoxischer Pharmaka sind denkbar?

Der Begriff "Ototoxizität" umfaßt Schädigungen von Hörorgan (Cochlea) und Gleichgewichtsorgan (Vestibularorgan) (KLINKE, 1978).

Für die cochleotoxische Wirkung von Pharmaka kommen verschiedene Angriffspunkte in Frage:

1) Die Stria vascularis.
2) Die Haarzelle selbst.
3) Die Synapse zwischen Haarzelle und primär afferenter Faser.
4) Die Synapse zwischen Haarzelle bzw. afferenter Faser und efferenter Faser.

Die Pharmaka können dabei über das Gefäßnetz des Perilymphraums in die Perilymphe oder über das Gefäßnetz der Stria vascularis in die Endolymphe eindringen und somit an ihren Wirkort gelangen.

6.) Welche Pharmaka sind ototoxisch?

Hier seien nur die Substanzklassen erwähnt, die klinisch häufig Verwendung finden und deren ototoxische Nebenwirkung aus diesem Grund von Interesse ist.

1) Aminoglycosid-Antibiotica.
Heute werden über 90 % der medikamentös bedingten Hör- und Gleichgewichtsschäden durch ototoxische Antibiotica hervorgerufen (FEDERSPIL, 1978). Die Schäden sind irreversibel oder sogar progredient (s.a. KLINKE, 1978).

2) Ethacrynsäure (EA), Furosemid (FUR), Piretanid (PIR) und Bumetanid (BUM) sind ototoxische Schleifendiuretica (Lit. bei BROWN u. FELDMAN, 1978). Die ototoxischen Wirkungen potenzieren sich bei gleichzeitiger Anwendung von Aminoglycosid-Antibiotica (BRUMMET et al., 1975; NAKAI, 1977). Schleifendiuretica verursachen gewöhnlich vorübergehende Hörschäden, jedoch können sowohl Ethacrynsäure (Lit. bei BROWN und FELDMAN, 1978) als auch Furosemid (QUICK und HOPPE, 1975) irreversible Schäden hervorrufen.

3) Salicylate und andere Nicht-Steroid-Antiphlogistica wie z.B. Indomethacin (Lit. bei BROWN u. FELDMAN, 1978).

4) Antimalaria-Mittel wie Chinin und Chinidin (Lit. bei BROWN u. FELDMAN, 1978).

7.) Nachweis ototoxischer Nebenwirkungen

Um die ototoxische Wirkung von Pharmaka nachzuweisen, stehen tierexperimentell mehrere Methoden zur Verfügung, nämlich histologische, biochemische, physiologische sowie Verhaltenstests, welche das Verhalten konditionierter Tiere als Antwort auf einen akustischen Reiz zeigen.

Beim Menschen gibt die Audiometrie Aufschluß über einen Hörschaden, außerdem besteht die Möglichkeit, die durch einen Schallreiz ausgelösten neuronalen Prozesse (evozierte Potentiale) im EEG zu überprüfen.

Es sei nun kurz diskutiert, welcher elektrophysiologische Parameter sich dazu eignet, die ototoxische Wirkung einer Substanz nachzuweisen.

Eine zuverlässige Aussage, daß nach Applikation eines ototoxischen Pharmakons ein Hörverlust eingetreten ist, kann nur gemacht werden, wenn nachgewiesen wird, daß der Informationstransfer vom Innenohr zum ZNS beeinträchtigt ist. Dazu müssen die Eigenschaften der Einzelfasern oder das Summenaktionspotential (CAP) des Hörnerven überprüft werden. Für ein ototoxisches Pharmakon sind zahlreiche denk-

bare Angriffspunkte in der Cochlea vorhanden (es wird hierbei vorausgesetzt, daß die ototoxische Wirkung auf einer funktionellen Schädigung der Cochlea beruht und nicht auf einem Angriff des Pharmakons an der zentralen Hörbahn; träfe letzteres zu, wären auch Wirkungen auf andere Strukturen des ZNS zu erwarten). Ein hypothetisches ototoxisches Pharmakon könnte z.B. selektiv die Synapse zwischen Haarzelle und primär afferenter Faser beeinflussen, z.B. dadurch, daß es die Transmitterfreisetzung oder- wirkung blockiert; es würde also in ein sehr spätes Stadium des Transduktionsprozesses eingreifen. In diesem Fall wären cochleäre Potentiale wie das CM oder das EP unverändert, und man würde, wenn man sie als Parameter für die ototoxische Wirkung verwendet, eine falsche Aussage treffen, nämlich die, daß die Substanz nicht ototoxisch sei. Gegen die Verwendung des CM als Parameter sprechen neben logischen Argumenten noch zahlreiche andere (siehe unten).
Einzelfaserableitungen (Katze) nach i.a. und intracochleärer Applikation von Furosemid (FUR) zeigten, daß der scharf abgestimmte Teil der Tuning-Kurve verloren geht, wobei ein Sensitivitätsverlust im Bereich der CF von 30 - 40 dB auftritt (EVANS und KLINKE, 1974, 1982,b). Die Schwelle des übrigen Teils der Tuning-Kurve bleibt dabei praktisch unverändert: Der Verlust der Frequenz-Selektivität tritt auch bei Applikation anderer ototoxischer Substanzen oder bei Hypoxie auf (EVANS, 1974; EVANS und KLINKE, 1974, 1982,a); die gegen schädliche Einflüsse empfindlichste Region liegt also im Bereich 30 - 40 dB über der Schwelle, gemessen bei der charakteristischen Frequenz.

Wird das CAP durch einen Click ausgelöst, der 30 dB über der CAP-Schwelle liegt, werden die meisten Fasern, die zu diesem CAP beitragen, innerhalb des scharf abgestimmten Teils der Tuningkurve aktiviert. Das Frequenzspektrum des Clicks sollte breit sein, damit möglichst viele Fasern erregt werden. Dazu muß der Click sehr kurz sein ($< 0{,}1$ ms).

Wird dieses durch einen 30 dB über der CAP-Schwelle liegenden Click ausgelöste CAP vollständig unterdrückt, so kann man daraus schließen, daß die scharfe Frequenz-Abstimmung der zum CAP beitragenden afferenten Fasern verloren gegangen ist. Wie oben ausgeführt wurde, tragen nur Fasern mit einer CF von ≥ 4kHz zur Entstehung des CAP bei (ANTOLI-CANDELA und KIANG, 1978). Es ist jedoch äußerst unwahrscheinlich, daß eine ototoxische Substanz selektiv nur die Eigenschaften der Fasern mit niedriger CF verändert; in diesem Fall wäre die ototoxische Wirkung am CAP nur sichtbar, wenn tone bursts der entsprechenden Frequenzen als akustischer Reiz gewählt würden.

Es ist offensichtlich, daß die Amplitude Spitze-Spitze des CAP ein zuverlässigerer Parameter ist als nur die Beurteilung der negativen Komponente N_1. Durch die ototoxische Wirkung einer Substanz könnte ja nur die positive Komponente P_1 beeinträchtigt werden; legte man dann die Amplitude des N_1 als Kriterium zugrunde, würde man eine falsche Aussage treffen, nämlich die, daß die Substanz nicht ototoxisch sei. Für die Auswertung Spitze-Spitze spricht aber insbesondere, daß dieser Wert im Gegensatz zu N_1 unabhängig von Schwankungen der Null-Linie ist, d.h. mit großer Sicherheit bestimmt werden kann.

Gleichzeitig durchgeführte Einzelfaser- und CAP-Ableitungen nach i.a. oder intracochleärer Applikation von Furosemid (EVANS u. KLINKE, 1974, 1982,b) zeigen, daß die Verschlechterung der Frequenzabstimmung der Einzelfasern mit dem Abfall des CAP einhergeht: ist die Frequenzabstimmung verloren gegangen, ist auch das CAP vollständig unterdrückt, wenn es mit niedrigen Click-Intensitäten evoziert wurde. Die Applikation von Furosemid führt häufig zu einem Anstieg der Spontanaktivität der Fasern (EVANS u. KLINKE, 1974, 1982,b). Dieser Anstieg der Spontanaktivität hat jedoch keine Unterdrückung des CAP durch Maskierung zur Folge, wie die gleichzeitige Registrierung des CAP beweist (EVANS u. KLINKE, 1974, 1982,b).

Die Beurteilung des CM ist aus vielen Gründen kein zuverlässiges Kriterium zum Nachweis ototoxischer Wirkungen einer Substanz. Ein hypothetisches Pharmakon, das in irgendeiner Weise mit der Transmittersubstanz an der Synapse zwischen Haarzelle und afferenter Faser interferiert, und so eine ototoxische Wirkung entfaltet, würde das CM und z.B. auch das EP unbeeinflußt lassen. Weiterhin ist die Entstehung des CM noch nicht völlig klar: Die Batterietheorie von DAVIS (1965) erklärt z.B. nicht die Erscheinung, daß die positive und negative Komponente des CM, CM^+ und CM^- ein unterschiedliches Verhalten gegenüber Noxen zeigen: gegenüber Anoxie zeigt sich CM^- sehr empfindlich, während CM^+ vorübergehend sogar ansteigt, so daß die Amplitude des CM Spitze-Spitze praktisch unverändert bleibt; das CAP ist zu gleicher Zeit deutlich in seine Amplitude reduziert (GÖTTL und KLINKE, 1977; GÖTTL, 1980). Ebenso verhalten sich CM und CAP während einer Cyanid-Intoxikation (KLINKE u. EVANS, 1977; EVANS und KLINKE, 1982,a). Versuche mit Furosemid zeigten, daß CM^+ empfindlicher gegenüber Furosemid reagiert als CM^-; CM^- blieb unverändert, oder stieg sogar an, während CM^+ dosisabhängig vermindert war; so blieb auch hier die Amplitude des CM Spitze-Spitze unverändert oder war nur leicht vermindert (EVANS und KLINKE, 1974, 1982,b).

Bewirkt eine Noxe, daß eine Komponente des CM stärker ansteigt, als die andere abfällt, oder daß eine Komponente ansteigt und die andere unverändert bleibt, so resultiert eine vergrößerte Amplitude des CM Spitze-Spitze. Tatsächlich kann das CM während einer Cyanidvergiftung an Amplitude zunehmen (KLINKE und EVANS, 1977). Das CM gibt also nur dann über eine Cochleaschädigung Aufschluß, wenn seine Komponenten CM^+ und CM^- getrennt betrachtet werden; jedoch muß auch hier noch die Einschränkung gemacht werden, daß auch die Einzelkomponenten des CM kein sehr empfindlicher Indikator sind: Eine Dosis Furosemid, welche eine Reduktion der CAP-Amplitude von 50 % zur Folge hatte, zeigte überhaupt keinen Einfluß auf CM^+ oder CM^- (EVANS und KLINKE, 1982,b).

Das endocholeäre Potential fällt nach i.v.-Applikation von FUR rasch bis auf negative Werte (JUHN et al., 1981; SYKA und MELICHAR, 1981). Dies ist sicher Ausdruck einer Schädigung der Cochlea durch das Pharmakon und gibt Hinweise auf seinen Angriffsort; andererseits beweist ein unverändertes EP nicht, daß ein Pharmakon nicht ototoxisch ist.

Das Summationspotential (SP) ändert Polarität und Amplitude nach Applikation von Ethacrynsäure oder Furosemid (ARAN und de SAUVAGE, 1977; SYKA und MELICHAR, 1981). Die genaue Entstehung des Summationspotentials ist noch nicht bekannt, doch besteht sicher eine Beziehung zur intrazellulären Depolarisation der Haarzelle, wie sie von RUSSELL und SELLICK (1978, 1981) beobachtet wurde. Eine Änderung des Summationspotentials weist darauf hin, daß ein ototoxisches Pharmakon an der Receptorzelle selbst angreift, jedoch beweist ein unverändertes SP nicht, daß die Substanz nicht ototoxisch ist.

Als zuverlässige Parameter zur Beurteilung der Ototoxizität kommen nur CAP oder Einzelfaserableitungen in Frage, wobei die Ableitung des CAP methodisch einfacher durchführbar ist. Bei den durchgeführten Versuchen wurde als Parameter das CAP verwendet, welches bei einem Schalldruck von 30 dB über der visuell festgestellten CAP-Schwelle registriert wurde: dies wurde als "Standard-CAP" bezeichnet. Der gewählte Schalldruck ist einerseits deutlich überschwellig; die vollständige Unterdrückung des Standard-CAP erlaubt die Aussage: es ist ein Hörverlust von 30 dB eingetreten. Andererseits erregt dieser Schalldruck die Neurone sicher im scharf abgestimmten Bereich der Tuning-Kurven, also dort, wo die Fasern am empfindlichsten gegenüber Schädigungen sind. Die vollständige Unterdrückung des Standard-CAP erlaubt also weiterhin die Aussage, daß die Frequenzselektivität sich deutlich verschlechtert hat, was klinisch als Diskriminationsverlust bei der Sprachaudiome-

trie in Erscheinung tritt. Sensitivitäts- und Frequenzselektivitätsverlust bedingen auch das klinische Phänomen des Recruitment. Die Hörschwelle des geschädigten Ohres ist gegenüber dem gesunden Ohr erhöht, ist sie jdoch einmal erreicht, ist für einen gleichen Zuwachs an Lautstärkeempfindung ein geringerer Schalldruckzuwachs als am gesunden Ohr erforderlich, da jetzt die Zahl der aktiven Fasern sehr schnell zunimmt (siehe EVANS, 1975).

Die Verwendung des Standard-CAP als Parameter erlaubt also Aussagen mit klinischer Relevanz, eine Verwendung von CM, EP oder SP als Parameter dagegen nicht.

Bei den durchgeführten Versuchen wurden verschiedene Diuretica auf ihre Ototoxizität untersucht. Ototoxische Dosen von Diuretica führen zu massivem Wasser- und Elektrolytverlust, durch den eintretenden Blutdruckabfall kommt es zu einer Verschlechterung der Blutversorgung der Cochlea, dies führt u.a. zur Hypoxie, wodurch die Cochlea zusätzlich geschädigt wird (EVANS, 1974).

Man muß daher die eigentliche ototoxische Wirkung von Pharmaka trennen können von sekundären Effekten, die aufgrund anderer Wirkungen auftreten und eine Verschlechterung der Innenohrfunktion hervorrufen. Bei der Prüfung von Diuretica auf ihre Ototoxizität müssen also diuresebedingte sekundäre Wirkungen vermieden werden; dies kann geschehen, indem die Harnproduktion durch Abbinden der Nierengefäße ausgeschaltet wird, oder indem der produzierte Harn reinfundiert wird.

Folgende Diuretica wurden auf ihre ototoxische Wirkung hin geprüft:

1.) Ozolinon (OZO), Hauptmetabolit des Etozolin.
Von OZO existieren zwei optische Isomere; nur die linksdrehende Form ist diuretisch wirksam (GREVEN und HEIDENREICH, 1980).

2.) Azosemid (AZO).

3.) Furosemid (FUR).

4.) Piretanid (PIR).

5.) Bumetanid (BUM).

Chemische Struktur der Pharmaka siehe Abb. 3.

III.) Methodik

1.) Präparation des Versuchstiers

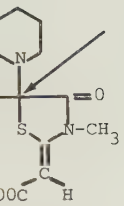
Als Versuchstiere dienten 66 Bastard Katzen beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 1,5 kg - 4,45 kg sowie ein Meerschweinchen (300 g Gewicht). Davon wurde eine Katze verwendet, um zu testen, ob Innenohrfunktion, Blutdruck- oder Atmungsregulation beeinflußt werden, wenn nach beidseitiger Ligatur der Nierengefäße 150 ml Ringer-Lösung infundiert werden. Bei 7 Katzen lag entweder, wie sich im Verlauf des Versuchs herausstellte, ein Hörschaden vor, oder die Präparation des Versuchstiers (VT) mißglückte. Die übrigen Tiere wurden für Vorversuche und Hauptversuche zur Testung von Diuretica verwendet.

Narkose beim Meerschweinchen: 0,15 ml Atropinsulfat i.p.
0,5 ml Rohypnol i.p.
0,5 ml Hypnorm i.m.

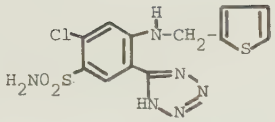
Den Katzen wurde zu Beginn des Experiments 32 mg/kg Pentobarbital-Na i.p. injiziert, außerdem 0,25 mg Atropinsulfat i.p. Bei Bedarf wurde während des Versuchs Pentobarbital-Na i.v. nachinjiziert.

Zuerst wurden V. femoralis und A. femoralis einer Seite katheterisiert. Über den Venen-Katheter wurde eine Infu-

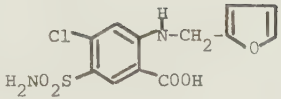
Abb. 3



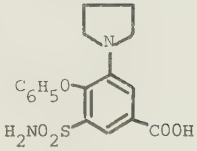
ZOLINON



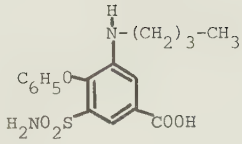
AZOSEMID



FUROSEMID



PIRETANID



BUMETANID

Chemische Struktur von OZOLINON (Pfeil markiert das asymmetrische C-Atom), AZOSEMID, FUROSEMID, PIRETANID und BUMETANID. Mit Ausnahme von AZOSEMID tragen alle Moleküle eine Carboxylgruppe, mit Ausnahme von OZOLINON sind alle Verbindungen Sulfonamidderivate (nach BRATER et al., 1979 und HEIDENREICH et al., 1982).

sionslösung folgender Zusammensetzung mit einer Geschwindigkeit von 3 ml/h zugeführt:

50 ml	Ringer-Lactat	0,5 mg Atropinsulfat
50 ml	Tutofusin EZX	5 g d-Glucose
11 ml	Haemaccel	0,6 g Supramycin

Über den Arterienkatheter wurde mit Hilfe eines Statham-Elementes der Blutdruck gemessen, in die Arterie 1,5 ml/h Ringer-Lactat infundiert, um einer Thrombenbildung an der Katheterspitze vorzubeugen. Zwischen Arterien-Katheter und Blutdruckmeßgerät wurde ein 3-Wege-Hahn geschaltet, um in einem späteren Stadium des Versuchs Blutproben aus der A. femoralis entnehmen zu können. Die Körpertemperatur des Versuchstiers wurde mit einer rectalen Sonde gemessen und über einen Regelkreis mittels eines Heizkissens auf 37,6° C gehalten. Nach Tracheotomie wurde in die Trachea eine Y-förmige Kanüle eingebunden, die die Messung des endexpirator. CO_2-Partialdrucks und, bei Überschreiten eines Wertes von 4,0 kPa (HERBERT und MITCHELL, 1971) künstliche Beatmung mit Hilfe einer Starling-Atempumpe ermöglichte.

Am Hinterkopf wurde durch einen bis auf den Knochen geführten Medianschnitt die Kopfschwarte durchtrennt, der Schnitt in Höhe des ersten Halswirbels T-förmig erweitert und die Kopfschwarte abpräpariert. Der knorplige äußere Gehörgang wurde freigelegt und ca. 2 mm vor dem knöchernen Porus acusticus externus durchtrennt. Beide Bullae tympani wurden freipräpariert, wozu die Halsmuskulatur teilweise vom Schädelknochen abpräpariert werden mußte.

Über einen dorsolateralen Zugang (ca. 2 cm neben der Wirbelsäule wurde beiderseits ein ca. 3 cm langer, von der Höhe der vorletzten Rippe nach caudal führender Paramedianschnitt geführt; dann wurden die die Niere bedeckenden flachen Muskelschichten stumpf durchtrennt.) wurde an beiden Nieren der Hilus freipräpariert; Fäden wurden um die Nierengefäße gelegt, um später die Ligatur durchführen zu können.

Das VT wurde dann in ein stereotakt. Gerät überführt und der Schädel durch von lateral in die Gehörgangsstümpfe eingeführte stumpfe Metallstifte in die richtige Position für das spätere Einführen der Mikrophone gebracht. Der Schädel des VT wurde am Schnittpunkt von Sagittal- und Coronarnaht mit Hilfe von selbsthärtenden PMMA-Kunststoff (= Polymethylmetacrylat, Prothesenkunststoff in der Zahnheilkunde) an einem Kopfhalter des stereotakt. Geräts befestigt. Mit einem Rosenbohrer wurden im oberen hinteren Quadranten der Bulla zwei übereinanderliegende kleine Löcher gebohrt, eine Ag-AgCl-Elektrode durch das untere Loch eingeführt und unter Sichtkontrolle mit einem Zeiss-OP-Mikroskop am runden Fenster plaziert, die indifferente Elektrode wurde am oberen Loch eingehängt. Die Elektroden wurden mit PMMA-Kunststoff festzementiert.

Kurz vor Beginn des eigentlichen Experiments wurden beiderseits die Nierengefäße ligiert.

2) VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

a) Akustische Reizung und Signalverarbeitung

Die Versuche wurden in einer schalldichten, gegen elektrische Störfelder abgeschirmten Kammer durchgeführt. Als akustischer Reiz dienten Clicks (in der Regel wurden rarefaction clicks verwendet), die durch Impluse von 60 µs Dauer erzeugt wurden. Nach Verstärkung (der Höchstwert für den Schalldruck bei OdB Abschwächung betrug ca. 3 Pa) wurden diese auf Kopfhörer geleitet, welche als Schallquelle ein 1" B + K Kondensor Mikrophon und als Meßsonde ein 1/4" Mikrophon enthielten.

Um die Intaktheit des Innenohrs zu überprüfen, wurden vor Beginn des Experiments Intensitätsfunktionen aufgenommen, d.h. die Amplitude des CAP wurde als Funktion des Schall-

drucks aufgetragen. Das jeweils bessere Ohr wurde für den Versuch genommen. Bei guten Ohren lag die visuell festgestellte Schwelle bei -70 dB bis -80 dB. Die Intensitätsfunktionen wiesen eine Stufe bei 45 - 50 dB über der Schwelle auf, die maximale CAP-Amplitude bei -10 dB betrug 600 - 1000 µV, bei einzelnen Versuchen lag sie noch höher.

Registriert wurde während des Experiments das Standard-CAP (= CAP bei 30 dB über der visuell festgestellten Schwelle), bei einem Teil der Versuche wurden auch CM^+ und CM^- registriert.

CAP (Spitze-Spitze), CM^+ und CM^- wurden getrennt in einer Sample and Hold-Schaltung gespeichert und dann durch Schreiber und Rechner registriert.

Abb. 4

Prinzipschaltung

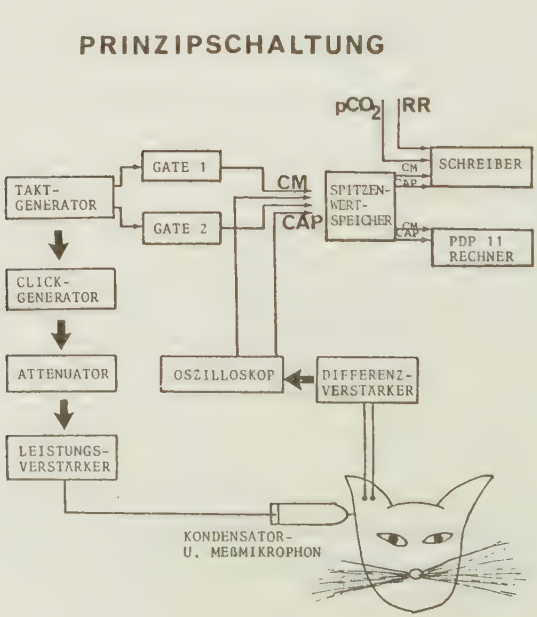


Abb. 4 PRINZIPSCHALTUNG
CM = Cochleäre Mikrophonpotentiale

b) Applikation und Dosierung der Pharmaka

Die Pharmaka wurden über den Venenkatheter i.v. während 2 min langsam von Hand injiziert. Bei Vorversuchen mit FUR, PIR und BUM sowie bei den Versuchen mit OZO und AZO wurden andere Injektionsgeschwindigkeiten gewählt. In einem Experiment mit BUM (OT-16) wurde die Substanz i.a. appliziert, da der Venenkatheter nicht durchgängig war.

Blutproben wurden entnommen, um die Serumkonzentration der Pharmaka bestimmen zu können (nur für FUR, PIR, BUM, nicht für OZO und AZO). 2 min nach Injektionsende wurde über den Arterienkatheter am 3-Wege-Hahn eine erste Blutprobe entnommen, eine zweite, wenn das CAP sich auf 50 % des Ausgangswertes erholt hatte; dieser Zeitpunkt wurde durch den Rechner angezeigt, der vor Applikation des Pharmakons den CAP-Ausgangswert gespeichert hatte. Bei einigen Versuchen wurden weitere Blutproben entnommen (z.B. bei Erreichen von 70 % des Ausgangs-CAP).

Dosis-Wirkungskurven (diuretische Wirkung), an anästhesierten Katzen bestimmt, lagen vor für FUR, PIR und BUM, nicht für OZO und AZO.

Folgende Regressionsgeraden für die einzelnen Pharmaka lagen vor:

FUR: $y = 21{,}383 + 20{,}698 \lg x$; $r = 0{,}779$
PIR: $y = 41{,}657 + 19{,}649 \lg x$; $r = 0{,}937$
BUM: $y = 29{,}266 + 11{,}109 \lg x$; $r = 0{,}749$
(MUSCHAWECK, unveröffentlicht)

Die Dosis, welche eine Diurese von 30 ml/kg · 4 h bewirkt, wurde für alle 3 Pharmaka berechnet und als Standard-Dosis (SDD_{30}) definiert. Diese diuretisch äquipotenten Dosen lagen für alle 3 Substanzen im mittleren Bereich der experimentell bestimmten Dosis-Wirkungskurven, ansonsten war der Wert von 30 ml/kg · 4 h willkürlich festgelegt, aller-

dings mit Absicht so nahe wie möglich an ototoxischen Dosen.

Die SDD_{30} betrug für FUR 2,61 mg/kg, für PIR 0,26 mg/kg, für BUM 1,16 mg/kg.

c) Auswertung der Ergebnisse

Zur Beurteilung der ototoxischen Wirkung von FUR, PIR und BUM wurde die ED_{50} nach dem Verfahren von SPEARMAN-KAERBER (s. SACHS, 1974) berechnet. Als "Effekt" wurde die totale Unterdrückung des Standard CAP festgelegt. Bezieht man die ED_{50} auf die SDD_{30}, so läßt sich eine Aussage über die therapeutische Breite der einzelnen Substanzen machen.

Bei OZO und AZO konnte aufgrund der geringen Anzahl der durchgeführten Versuche keine statistische Auswertung vorgenommen werden, nur eine grobe Abschätzung der ED_{50} war möglich.

Dosis-Wirkungskurven (ototoxische Wirkung, gemessen an der CAP-Amplitude) lassen keine klaren Aussagen zu, da die Intensitätsfunktion des CAP eine nichtlineare, nichtmonotone Funktion ist; zudem ändert sich deren Form bei experimenteller Schädigung der Cochlea (EVANS und KLINKE, 1982,a; siehe auch Abb. 5, nach eigenen Befunden).

IV. Ergebnisse

1) Vorversuch OT-0
2) FUROSEMID
3) PIRETANID
4) BUMETANID
5) OZOLINON
6) AZOSEMID

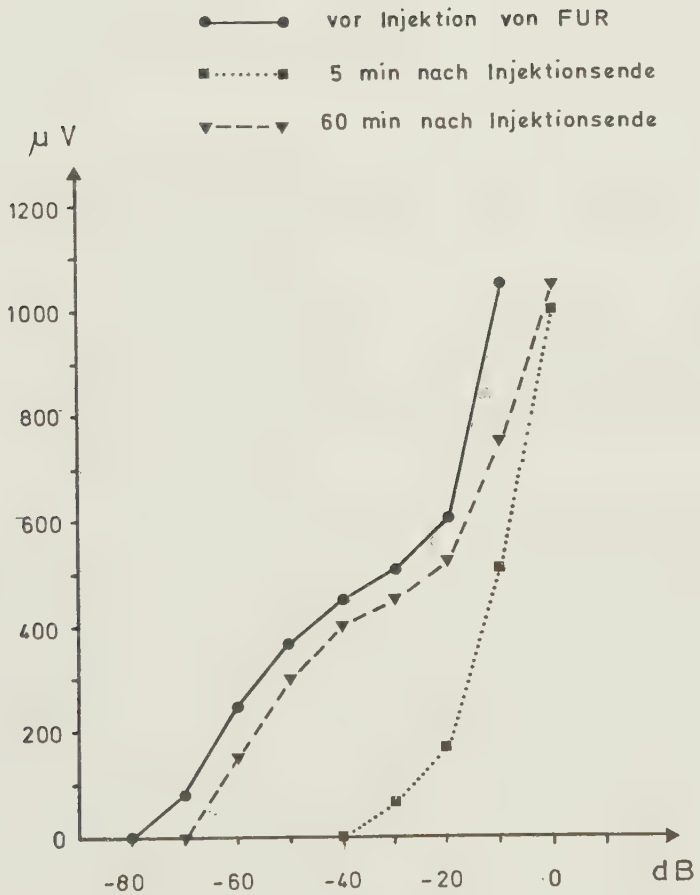


Abb. 5 Veränderung der Intensitätsfunktion nach Injektion von 17,5 mg/kg FUR (Versuch OT-31)

Nach 60 min Erholungszeit hat die Kurve annähernd ihre ursprüngliche Form wieder erreicht, es besteht noch ein Hörverlust von ≤ 10 dB.

1) Vorversuch OT-0

Nach beidseitiger Ligatur der Nierengefäße wurden 150 ml Ringer-Lösung über einen Zeitraum von 4 h infundiert. Während einer 4,25 std. Beobachtungszeit waren keine Wirkungen auf CAP-Amplitude, mittleren Blutdruck oder Blutdruckamplitude sowie CO_2-Partialdruck festzustellen. Daraus wurde geschlossen, daß die Ausschaltung der Harnproduktion durch Ligatur der Nierengefäße einen für diese akuten Versuche akzeptablen Eingriff darstellt.

2) FUROSEMID (FUR) (Tab. 1, Abb. 6, Abb. 7)

Mit FUR wurden 18 Versuche durchgeführt. 9 Versuche wurden für die statistische Auswertung verwendet (siehe Tab. 1). Von den übrigen 9 Versuchen diente ein Versuch zur Bestimmung des Verlaufs der Serumkonzentration von FUR innerhalb 3 h nach Injektion von 30 mg/kg/2 min, wobei die Nierengefäße ligiert waren. Der Abfall der Serumkonzentration von FUR folgte einer Kinetik 1. Ordnung. Zwei Versuche wurden für die Statistik nicht verwendet, da die CAP-Schwelle des VT schlecht war (30 dB), bei 5 Versuchen wurden hohe Dosen bzw. Mehrfachinjektionen gewählt. In einem Experiment wurde dem VT eine Dosis von 20 mg/kg als Stoßinjektion appliziert. Das CAP wurde rasch vollständig unterdrückt, erholte sich jedoch in knapp 17 min auf 50 % des Ausgangswertes. Später setzte eine Diurese ein, da die Nierengefäße nicht ligiert worden waren: es kam zum Blutdruckabfall, damit einhergehend zum erneuten Abfall des CAP (siehe Abb. 6).

Die für die Statistik verwendeten Versuche wurden in 3 Dosisklassen eingeteilt:

Versuchs-Nr.	Dosis mg/kg	n-fache SDD_{30}	CAP Null Zeit nach Injektionsende	CAP-Erholung auf 50 % Zeit nach Injektionsende
OT-28	25	9,5	ja; während der Injektion	ja; 18,2 min
OT-34	25	9,5	ja; 1,1 min	ja; 14,4 min
OT-62	25	9,5	ja; 2,4 min	ja; 37,6 min
OT-47	20	7,6	ja; während der Injektion	nein; >70,0 min
OT-48	20	7,6	nein (40 % nach 5,2 min)	ja; 6,6 min
OT-64	20	7,6	ja; während der Injektion	ja; 37,0 min
OT-29	15	5,7	nein	-
OT-30	15	5,7	nein	-
OT-31	15	5,7	nein	-

Tabelle 1 VERSUCHE MIT F U R O S E M I D, DIE FÜR DIE BERECHNUNG DER ED_{50} BERÜCKSICHTIGT WURDEN

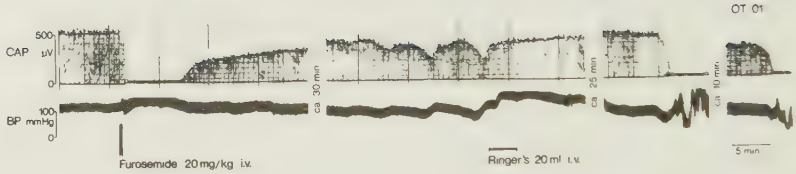


Abb. 6 Wirkung von 20 mg/kg FUR i.v. auf Standard-CAP und Blutdruck bei einem Versuchstier ohne Ligatur der Nierengefäße

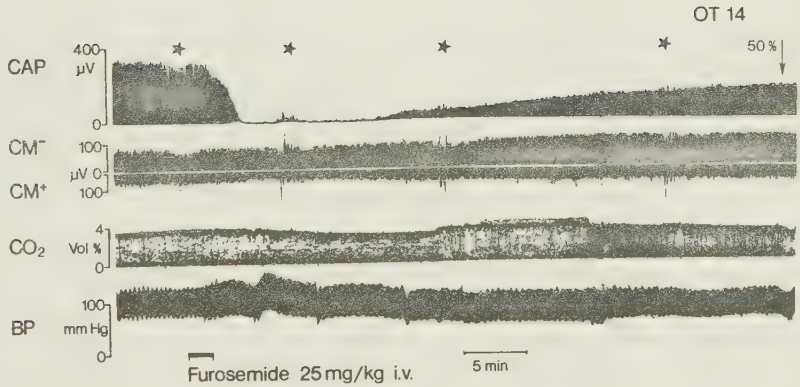


Abb. 7 Wirkung von 25 mg/kg FUR i.v. auf Standard-CAP und CM

Zu beachten ist der Anstieg von CM^-. Die Sterne markieren Artefakte durch Manipulation am Versuchstier.

15 mg/kg = 5,75 x SDD_{30}; 20 mg/kg = 7,66 x SDD_{30}; 25 mg/kg = 9,58 x SDD_{30} (siehe Tab. 1).

Jede Dosis wurde an jeweils 3 VT getestet. Das Kriterium totale Unterdrückung des Standard-CAP war bei der hohen Dosis bei allen VT erfüllt, bei der mittleren Dosis bei zwei der 3 VT, bei der niedrigen Dosis bei keinem der VT.

Berechnung der ED_{50}

a) $ED_{50} = X_K - d\ (S_1 - 0{,}5)$

X_K: kleinste Dosis, von der stets 100 %ige Reaktion beobachtet werden

d: Abstand der Dosen voneinander

S_1: Summe der Anteile reagierender Individuen

b) Die zu ED_{50} gehörende Standardabweichung

$$S_{ED} = d \sqrt{2\,S_2 - S_1 - S_1^2 - \frac{1}{12}}$$

S_2: Summe der kumulierten Anteile reagierender Individuen

c) Nach $m \pm 1{,}96 \cdot S_{ED_{50}}$ lassen sich die 95 %-Vertrauensgrenzen abschätzen.

FUR (siehe Tab. 1)

a) $ED_{50} = 25 \text{ mg/kg} - 5 \text{ mg/kg} \cdot 1{,}16$

$ED_{50} = 19{,}20 \text{ mg/kg} = \frac{7{,}36 \text{ x } SDD_{30}}{}$

b) $S_{ED_{50}} = 5 \text{ mg/kg} \sqrt{4,64 - 1,66 - 2,76 - 0,083}$

$S_{ED_{50}} = 1,85 \text{ mg/kg} = \frac{0,71 \times SDD_{30}}{}$

c) 19,2 mg/kg + 1,96 1,85 mg/kg

95 %-Vertrauensgrenze (VG) $\left[\begin{array}{l} 22,83 \text{ mg/kg} = \frac{8,75 \times SDD_{30}}{} \\ 15,75 \text{ mg/kg} = \frac{5,97 \times SDD_{30}}{} \end{array}\right.$

Der Eintritt der vollen ototoxischen Wirkung (d.h. Nullwert oder Minimalwert des Standard-CAP) nach Applikation der der ED_{50} am nächsten kommenden Dosis (20 mg/kg) erfolgte frühestens bei Ende der Injektion, spätestens 5,2 min nach Injektionsende.

Erholungszeit:

Hierbei wurden alle Versuche, also auch Vorversuche, berücksichtigt, bei denen die applizierte Dosis $< 1,5 \times ED_{50}$ war, und bei denen das Standard-CAP vollständig unterdrückt wurde. Als Erholungszeit wurde die Zeit definiert, welche für die Erholung des CAP auf 50 % des Ausgangswertes benötigt wurde. Die hierbei berücksichtigten Dosen waren verschieden groß, außerdem war die Zahl der Experimente, die die eben genannten Kriterien erfüllten, zu klein; daher konnte keine statistische Auswertung vorgenommen werden.

9 FUR-Versuche erfüllten die oben angeführten Kriterien. Die Erholungszeit lag zwischen 14,4 und 40 min. In einem dieser 9 Versuche erholte sich das CAP innerhalb von 70 min nicht bis auf 50 % (Dosis: 20 mg/kg), in einem anderen Versuch (Dosis: 30 mg/kg = $1,56 \times ED_{50}$) dauerte die Erholung auf 50 % 40 min. Der Medianwert der Erholungszeiten betrug 26 min, wobei der Wert > 70 min eingeschlossen war.

Serumkonzentrationen:

Die Serumkonzentrationen von FUR, PIR und BUM wurden mit freundlicher Unterstützung von Dr. Hajdú, Analytische Biochemie, Firma Hoechst, bestimmt. Hierbei wurden alle Versuche berücksichtigt, bei denen das CAP auf unter 50 % des Ausgangswertes abgefallen war und bei denen sowohl die initiale Serumkonzentration C_o (2 min nach Injektionsende) als auch die Serumkonzentrationen C_1 bei Erreichen des 50 %-Wertes bestimmt worden war. Auch Zweitinjektionen wurden berücksichtigt. 6 FUR-Versuche erfüllten dieses Kriterium (siehe Tab. 4).

Das Verhältnis der Serumkonzentrationen $\frac{C_1}{C_o}$ lag zwischen 0,58 und 0,78, Medianwert 0,65, die absoluten Serumkonzentrationen C_1 lagen zwischen 99 g/ml und 150 g/ml, Medianwert 106 g/ml, die initialen Serumkonzentrationen waren annähernd proportional der applizierten Dosis.

Verhalten von CM^-, CM^+:

CM^- und CM^+ wurden nur bei einem Teil der Versuche registriert, da beim gewählten Schalldruck (30 dB über Schwelle) ihre Amplitude oft zu klein war. In 4 Versuchen verkleinerten sich CM^- und CM^+ bei gleichzeitigem Abfall des CAP, dabei nahm CM^- in 2 dieser Versuche prozentual stärker ab als CM^+. In 3 Experimenten resultierte ein Anstieg von CM^- und CM^+ bei gleichzeitigem Abfall des CAP (in 2 dieser Experimente wurde das CAP vollständig unterdrückt).

Beeinflussung des Blutdrucks:

Bei einem Teil der Versuche traten leichter Blutdruckanstieg oder leichte Blutdruckschwankungen während und kurz nach der Injektion von FUR auf. In einem Versuch (20 mg/kg FUR als Stoßinjektion) wurde ein deutlicher Blutdruckanstieg beobachtet (ca. 25 mm Hg).

Versuchs-Nr.	Pharmakon	Dosis mg/kg	n-fache SDD_{30}	Initiale Serumkonz. C_o (µg/ml) (2 min nach Injektionsende)	Serumkonz. C_1 (µg/ml) bei 50 % CAP	C_1/C_o	CAP Null	Bemerkung
OT-28	FUR	25	9,5	212	150	0,71	ja	
OT-34	FUR	25	9,5	169	105	0,62	ja	
OT-48	FUR	20	7,6	148	100	0,68	nein	CAP-Abfall auf 40 % des Ausgangswertes
OT-30	FUR	20	7,6	171	99	0,58	ja	Injektion erfolgte 66 min nach unwirksamer Dosis von 15 mg/kg
OT-29	FUR	17,5	6,7	180	107	0,59	ja	Injektion erfolgte 60 min nach unwirksamer Dosis von 15 mg/kg
OT-31	FUR	17,5	6,7	179	139	0,78	ja	Injektion erfolgte 57 min nach unwirksamer Dosis von 15 mg/kg
OT-40	PIR	5,5	21,5	56,9	25,4	0,45	ja	
OT-15	PIR	4,6	18,0	40	27	0,68	ja	
OT-20	PIR	4,6	18,0	38	28	0,74	ja	
OT-22	PIR	4,6	18,0	40	26	0,65	ja	Injektion erfolgte 73 min nach unwirksamer Dosis von 4,6 mg/k
OT-57	PIR	3,7	14,5	51,8	27,3	0,53	nein	CAP-Abfall auf 22 % des Ausgangswertes
OT-16	BUM	3,3	2,84	80	3	0,038	ja	
OT-21	BUM	3,3	2,84	98	2,5	0,026	ja	
OT-39	BUM	3,3	2,84	32,5	2,9	0,089	ja	
OT-50	BUM	2,61	2,24	32,5	4,7	0,145	ja	
OT-59	BUM	2,3	1,98	23,5	2,87	0,122	ja	
OT-60	BUM	2,3	1,98	19,7	3,24	0,164	nein	CAP-Abfall auf 6 % des Ausgangswertes

Tabelle 4 INITIALE SERUMKONZENTRATIONEN C_o UND SERUMKONZENTRATIONEN ZUM ZEITPUNKT, DA SICH DAS CAP AUF 50 % ERHOLT HAT (C_1), BEI DEN TIEREN, DENEN MAXIMAL DIE 1,5-FACHE ED_{50} INJIZIERT WURDE

3) PIRETANID (PIR) (Tab. 2, Abb. 8)

Mit PIR wurden 17 Versuche durchgeführt. 10 Versuche wurden für die statistische Auswertung verwendet (siehe Tab. 2). Von den übrigen 7 Versuchen waren 2 Vorversuche mit hohen Dosen, 3 Versuche gehörten einer Dosisklasse an, die für die statistische Auswertung nicht benötigt wurde, bei einem Versuch ergaben sich fragwürdige Werte bei der Bestimmung der Serumkonzentrationen, ein Versuch wurde nicht berücksichtigt, da die Registrierung des CAP durch Artefakte verfälscht war.
Die für die Statistik verwendeten Versuche wurden in 3 Dosisklassen eingeteilt:

3,7 mg/kg = 14,51 x SDD_{30}; 4,6 mg/kg = 18,04 x SDD_{30}; 5,5 mg/kg = 21,57 x SDD_{30} (siehe Tab. 2).

Die mittlere Dosis wurde an 4 VT getestet, die niedrige und hohe Dosis an jeweils 3 VT. Das Kriterium totale Unterdrückung des Standard-CAP war bei der hohen Dosis bei allen VT erfüllt, bei der mittleren Dosis bei 3 der 4 VT, bei der niedrigen Dosis bei keinem der VT.

Berechnung der ED_{50} von PIR (siehe Tab. 2)

a) ED_{50} = 5,52 mg/kg - 0,92 mg/kg · 1,25
ED_{50} = 4,37 mg/kg = 17,14 x SDD_{30}

b) $S_{ED_{50}}$ = 0,92 mg/kg $\sqrt{5 - 1,75 - 3,06 - 0,083}$
$S_{ED_{50}}$ = 0,30 mg/kg = 1,18 x SDD_{30}

c) 4,37 mg/kg ± 1,96 · 0,30 mg/kg

95 % VG
4,96 mg/kg = 19,45 x SDD_{30}
3,78 mg/kg = 14,82 x SDD_{30}

d) Prüfen der Differenz zwischen zwei ED_{50} ($p < 0{,}001$):

Standardabweichung der Differenz $ED'_{50} - ED''_{50}$:

$$s_{Diff} = \sqrt{(s'^2) + (s'')^2}$$

S' und s" sind die zu den zwei mittleren effektiven Dosen ED'_{50} und ED''_{50} gehörenden Standardabweichungen

Auf dem 1 ‰ -Niveau besteht ein signifikanter Unterschied, sobald

$$ED'_{50} - ED''_{50} > 3{,}29 \cdot s_{Diff}$$

Prüfen der Differenz zwischen ED_{50} (FUR) und ED (PIR)

$$s_{Diff} = \sqrt{0{,}504 + 1{,}392} = 1{,}38$$

$$17{,}14 - 7{,}36 > 4{,}54$$

Zwischen ED_{50} (FUR) und ED_{50} (PIR) besteht ein Unterschied auf dem 1 ‰ -Niveau.

Der Eintritt der vollen ototoxischen Wirkung (d.h. Nullwert oder Minimalwert des Standard-CAP) nach Applikation der der ED_{50} am nächsten kommenden Dosen (4,14 mg/kg; 4,37 mg/kg; 4,6 mg/kg) erfolgte frühestens 3,07 min nach Injektionsende, spätestens 7,8 min danach. Nur in einem Fall dauerte es 32,3 min, bis das CAP vollständig unterdrückt war.

Erholungszeit:

Es wurden hierbei alle Versuche berücksichtigt, welche die bereits für FUR unter "Erholungszeit" angeführten Kriterien erfüllten; dies war bei 7 Versuchen der Fall.

Die Erholungszeit lag zwischen 13,2 min und >240 min (länger wurde in diesem Experiment nicht beobachtet, die maximal erreichte Erholung betrug 40 % nach 191 min); der Medianwert der Erholungszeiten betrug 29,5 min. Bei der Berechnung des Medianwerts wurde auch ein Versuch mit einer Dosis von 10 mg/kg ($\sim$ 2,3 x SD) berücksichtigt, die Erholungszeit betrug hier 26,2 min. In einem anderen Versuch hingegen (4,6 mg/kg) war nach 123 min Beobachtungszeit noch kein Anzeichen von Erholung sichtbar.

Serumkonzentrationen:

Es wurden hierbei alle Versuche berücksichtigt, welche die bereits für FUR unter "Serumkonzentrationen" angeführten Kriterien erfüllten, dies war bei 5 Versuchen der Fall (siehe Tab. 4).

Das Verhältnis der Serumkonzentrationen $\frac{C_1}{C_o}$ lag zwischen 0,45 und 0,74, Medianwert 0,65, die absoluten Serumkonzentrationen C_1 lagen zwischen 25,4 µg/ml und 28 µg/ml, Medianwert 27 µg/ml. In der niedrigen Dosisklasse (3,7 mg/kg) lagen die initialen Serumkonzentrationen höher als in der mittleren Dosisklasse (4,6 mg/kg) und in der gleichen Größenordnung wie in der hohen Dosisklasse (5,5 mg/kg).

Verhalten von CM^-, CM^+:

In 3 Versuchen verkleinerten sich CM^- und CM^+ bei gleichzeitigem Abfall des CAP, in einem dieser Versuche fiel CM^- auf Null ab, während CM^+ nur auf ca. 50 % abnahm; im selben Versuch erholten sich CM^- und CM^+, nahmen während der Erholung des CAP dann jedoch wieder an Amplitude ab, obwohl sich das CAP gleichzeitig weiter erholte.

Versuchs-Nr.	Dosis mg/kg	n-fache SDD_{30}	CAP Null Zeit nach Injektionsende	CAP-Erholung auf 50 % Zeit nach Injektionsende
OT-35	5,5	21,5	ja; Injektionsende	nein; > 191 min
OT-36	5,5	21,5	ja; 1,33 min	nein; > 235 min
OT-40	5,5	21,5	ja; 0,5 min	ja; 29,3 min
OT-15	4,6	18,0	ja; 3,07 min	ja; 25,6 min
OT-19	4,6	18,0	ja; 32,3 min	nein; > 123,0 min
OT-20	4,6	18,0	ja; 3,64 min	ja; 13,2 min
OT-22	4,6	18,0	nein	-
OT-56	3,7	14,5	nein	-
OT-57	3,7	14,5	nein	-
OT-58	3,7	14,5	nein	-

Tabelle 2 VERSUCHE MIT P I R E T A N I D, DIE FÜR DIE BERECHNUNG DER ED_{50} BERÜCKSICHTIGT WURDEN

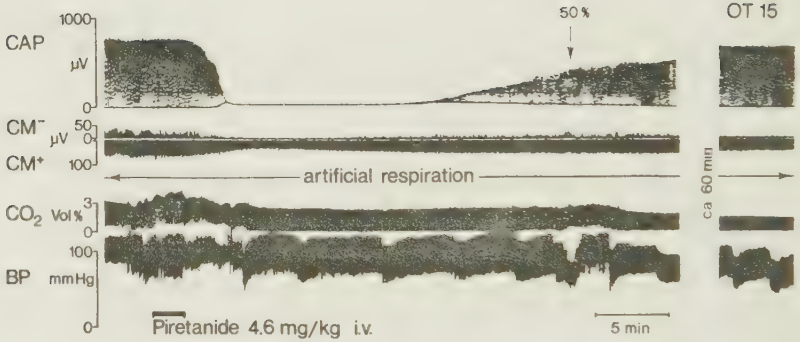


Abb. 8 Wirkung von 4,6 mg/kg PIR i.v. auf Standard-CAP und CM

Beeinflussung des Blutdrucks:
Bei einem Teil der Versuche traten leichter Blutdruckanstieg oder leichte Blutdruckschwankungen während und kurz nach der Injektion von PIR auf. In einem Versuch (3,7 mg/kg) resultierte ein starker Blutdruckanstieg von 75 auf 150 mm Hg.

4) BUMETANID (BUM) (Tab. 3, Abb. 9)

Mit BUM wurden 15 Versuche durchgeführt. 11 Versuche wurden für die statistische Auswertung verwendet. 3 Versuche waren Vorversuche mit Mehrfachinjektion bzw. niedrigen Dosen, 1 Versuch wurde nicht berücksichtigt, da das VT eine schlechte Hörschwelle hatte.
Die für die Statistik verwendeten Versuche wurden in 3 Dosisklassen eingeteilt.:

2,0 mg/kg = 1,72 x SDD_{30}; 2,3 mg/kg = 1,98 x SDD_{30}; 2,6 mg/kg = 2,24 x SDD_{30} bzw. 3,3 mg/kg = 2,84 x SDD_{30} (siehe Tab. 3).

Mit der hohen Dosis wurden 4 Versuche durchgeführt, ebenso mit der mittleren, mit der niedrigen Dosis 3 Versuche. Das Kriterium totale Unterdrückung des Standard-CAP war bei der hohen Dosis bei allen VT erfüllt, bei der mittleren Dosis bei 3 der 4 VT, bei der niedrigen Dosis bei keinem der VT.

Berechnung der ED_{50} von BUM (siehe Tab. 3)

a) ED_{50} = 2,62 mg/kg - 0,33 mg/kg · 1,25
ED_{50} = 2,21 mg/kg = 1,91 x SDD_{30}

Versuchs-Nr.	Dosis mg/kg	n-fache SDD_{30}	CAP Null Zeit nach Injektionsende	CAP-Erholung auf 50 % Zeit nach Injektionsende
• OT-16	3,3	2,84	ja; 2,1 min	ja; 263 min
OT-21	3,3	2,84	ja; 9,2 min	nein; >350 min (46 %)
OT-39	2,6	2,24	ja; 8,6 min	ja; 264 min
OT-50	2,6	2,24	ja; 6,8 min	ja; 60 min
OT-51	2,3	1,98	ja; 17,3 min	nein; >460 min (43 %)
OT-53	2,3	1,98	ja; 34,6 min	nein; > 76 min
OT-59	2,3	1,98	ja; 17,7 min	ja; 117 min
OT-60	2,3	1,98	nein	-
•• OT-9	2,0	1,72	nein	-
OT-45	2,0	1,72	nein	-
OT-46	2,0	1,72	nein	-

•In Versuch OT-16 wurde BUMETANID i.a. injiziert

••In Versuch OT-9 betrug die Injektionszeit 5 min

Tabelle 3 VERSUCHE MIT B U M E T A N I D, DIE FÜR DIE BERECHNUNG DER ED_{50} BERÜCKSICHTIGT WURDEN

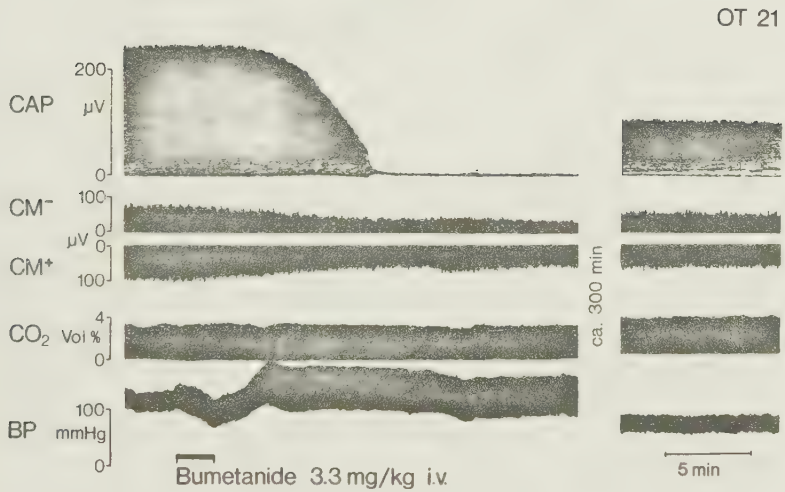


Abb. 9 Wirkung von 3,3 mg/kg BUM i.v. auf Standard-CAP und CM

b) $S_{ED_{50}}$ =0,33 mg/kg 5 - 1,75 - 3,06 - 0,083 =
0,11 mg/kg = $\underline{0,095 \times SDD_{30}}$

c) $2,21 \pm 1,96 \cdot 0,11$ mg/kg

95 % VG
2,43 mg/kg = $\underline{2,09 \times SDD_{30}}$
1,99 mg/kg = $\underline{1,72 \times SDD_{30}}$

d) Prüfen der Differenz zwischen ED_{50} (FUR) und ED (BUM).

$S_{Diff} = \sqrt{0,009 \pm 0,504} = 0,72$

$7,36 - 1,91 > 2,37$

Zwischen ED_{50} (FUR) und ED_{50} (BUM) besteht ein Unterschied auf dem 1 ‰-Niveau.

Der Eintritt der vollen ototoxischen Wirkung (d.h. Nullwert oder Minimalwert des Standard-CAP) nach Applikation der der ED_{50} am nächsten kommenden Dosis (2,3 mg/kg) erfolgte frühestens 15 min nach Ende der Injektion, spätestens 34,6 min danach.

Erholungszeit:

Es wurden hierbei alle Versuche berücksichtigt, welche die bereits für FUR unter "Erholungszeit" angeführten Kriterien erfüllten; dies war bei 7 Versuchen der Fall (siehe Tab. 4).

Die Erholungszeit lag zwischen 60 und > 466 min (die Erholung in diesem Versuch betrug 43 % nach 466 min); der Medianwert der Erholungszeiten betrug 263 min. In einem Versuch war die Beobachtungszeit 350 min, das CAP hatte sich in dieser Zeit auf 46 % erholt; in einem anderen Experiment waren nach 76 min keine Anzeichen von Erholung er-

Serumkonzentrationen:
Es wurden hierbei alle Versuche berücksichtigt, welche die bereits für FUR unter "Serumkonzentrationen" angeführten Kriterien erfüllten; dies war bei 6 Versuchen der Fall (siehe Tab. 4).
Das Verhältnis der Serumkonzentrationen $\frac{C_1}{C_o}$ lag zwischen 0,026 und 0,164, Medianwert 0,106, die absoluten Serumkonzentrationen C_1 lagen zwischen 2,5 µg/ml und 4,7 µg/ml, Medianwert 2,95 µg/ml. Die initialen Serumkonzentrationen waren annähernd proportional der applizierten Dosis.

Verhalten von CM^-, CM^+:
In 2 Versuchen verkleinerten sich CM^- und CM^+ bei gleichzeitigem Abfall des CAP. In beiden Versuchen wurde CM^- stärker als CM^+ unterdrückt. Mit der Erholung des CAP erfolgte auch die Erholung von CM^- und CM^+, bei einem Versuch erreichte die Erholung von CM^+ einen Maximalwert, dann verkleinerte sich die Amplitude von CM^+ wieder, obwohl sich das CAP gleichzeitig weiter erholte.

Beeinflussung des Blutdrucks:
In einem Experiment wurde ein leichter Blutdruckanstieg während der Injektion von BUM beobachtet, bei 3 Versuchen ein kontinuierlicher langsamer Blutdruckabfall nach der Injektion von BUM; in diesen 3 Versuchen war die Beobachtungszeit 260 min und länger.

5.) OZOLINON (OZO) (Abb. 10)

Mit OZO wurden 7 Versuche durchgeführt, davon 3 mit dem Racemat, 3 Versuche mit (+) OZO und einer mit (-) OZO, dem diuretisch wirksamen Isomer.

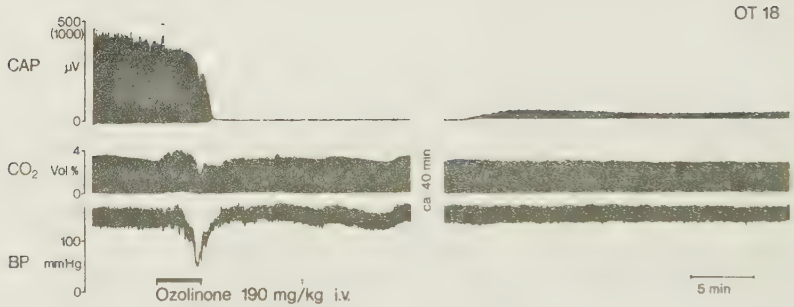


Abb. 10 Wirkung von 190 mg/kg OZO i.v. auf Standard-CAP, Atmung und Blutdruck

Aus den Versuchen mit dem Racemat ergab sich, daß die ED_{50} unter 190 mg/kg anzusetzen ist; bei dieser Dosis, in 3,5 min appliziert, fiel das CAP rasch auf Null (Abb. 10) ab und benötigte 210 min, um 50 % des Ausgangswerts zu erreichen; die Erholung verlief wellenförmig. Um Spezies-Unterschiede zu testen, wurde mit dem Racemat ein Versuch am Meerschweinchen durchgeführt. Die gewählte Dosis war hoch (660 mg/kg · 3 min), in der Annahme, daß OZO nicht ototoxisch sei (MORGENSTERN und JUHN, 1980). Das CAP fiel rasch auf Null ab und erholte sich in 22,5 min auf 50 % des Ausgangswertes.

Die Versuche mit (+) OZO erwiesen sich als problematisch, da (+) OZO weder in vitro noch in vivo stabil zu sein scheint. Es entsteht offenbar rasch das Racemat. Dies konnte aus der eintretenden diuretischen Wirkung geschlossen werden. Da (+) OZO nicht diuretisch wirksam ist, waren die Nierengefäße nicht ligiert worden. Aufgrund der eben angesprochenen Instabilität von (+) OZO kam es nach Injektion von 400 mg/kg · 5 min zu einem raschen CAP-Abfall auf 10 % des Ausgangswertes; CM^+ und CM^- stiegen jedoch gleichzeitig an. Bei einer Dosis von 625 mg/kg war in einem Versuch (OT 26) eine geringfügige Abschwächung von CAP, CM^+ und CM^- zu beobachten, in einem anderen (OT-25) resultierte bereits während der Injektion eine Vergrößerung der Amplitude von CAP, CM^+ und CM^-.

Demselben VT wurden 2 h später 100 mg/kg (-) OZO injiziert. Das CAP wurde schnell vollständig unterdrückt, nach 30 min Beobachtungszeit waren noch keine Anzeichen von Erholung erkennbar, im Gegensatz dazu erholten sich CM^+ und CM^- rasch. Die ED_{50} für (-) OZO kann also unter 100 mg/kg angesetzt werden.

Sowohl das Racemat als auch (+) OZO zeigten Beeinflussung von Blutdruck und Atmung: Im Versuch OT 18 (190 mg/kg des Racemats) war zunächst Anstieg, dann Abfall des pCO_2 und ein starker Blutdruckabfall während der Injektion zu beobachten, im Versuch OT-26 (625 mg/kg (+) OZO) ein starker Blutdruck- und pCO_2-Abfall zu Beginn der Injektion.

6) Azosemid (AZO) (Abb. 11)

Mit Azosemid wurden 2 Versuche durchgeführt.

Die ED_{50} kann unter 10 mg/kg angesetzt werden. Diese Dosis, in 5 min appliziert (OT-7), bewirkte vollständige CAP-Unterdrückung, die Erholung verlief wellenförmig, wobei das CAP noch zweimal auf Null abfiel; der 50 %-Wert war nach 104 min erreicht.

Eine Dosis von 30 mg/kg (OT-4) bewirkte ebenfalls eine vollständige CAP-Unterdrückung; hier waren jedoch nach 85 min Beobachtungszeit keine Anzeichen einer Erholung erkennbar (Abb. 11).

Bei der Dosis von 30 mg/kg traten noch während der Injektion starker Blutdruckabfall und Atemstillstand auf, so daß das VT künstlich beatmet werden mußte.

Im Anschluß an die Injektion von 10 mg/kg resultierte ebenfalls eine Atemdepression, die Atmung kam jedoch spontan wieder in Gang, gleichzeitig traten Blutdruckschwankungen auf.

V Diskussion

1) Versuche mit FUR, PIR und BUM

a) Vergleich der therapeutischen Breite von FUR, PIR und BUM

Für FUR gilt: $ED_{50} = 7{,}36 \times SDD_{30}$
Für PIR gilt: $ED_{50} = 17{,}14 \times SDD_{30}$
Für BUM gilt: $ED_{50} = 1{,}91 \times SDD_{30}$

Die ED_{50} ist die Dosis, welche bei 50 % der Versuchstiere einen standardisierten Hörschaden bewirkt; es be-

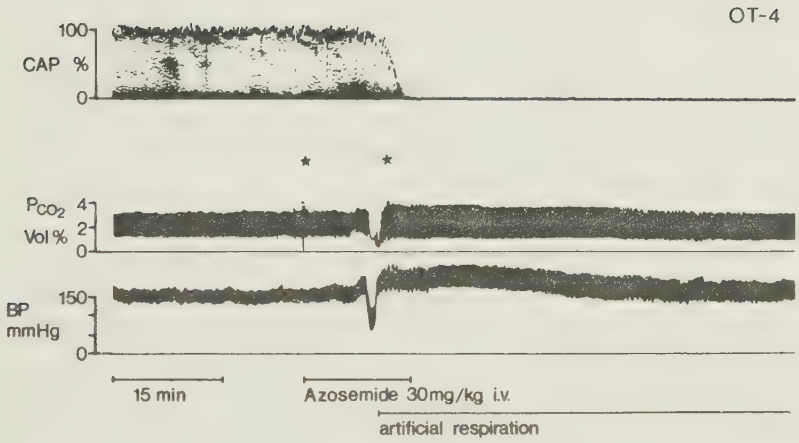


Abb. 11 Wirkung von 30 mg/kg AZO i.v. auf Standard-CAP, Atmung und Blutdruck

Die Sterne markieren Artefakte durch Manipulation am Versuchstier.

steht ein signifikanter Unterschied zwischen der ED_{50} von FUR, PIR und BUM auf dem 1 ‰-Niveau. Da diese ED_{50} auf eine diuretisch äquipotente Dosis aller 3 Pharmaka bezogen sind, kann man die Aussage treffen, daß (bezogen auf ototoxische Nebenwirkungen) die therapeutische Breite von PIR größer ist als die von FUR, diese wiederum größer als die von BUM.

Da diese Aussage auf eine mehr oder weniger willkürlich festgelegte diuretisch wirksame Dosis bezogen ist (SDD_{30}), ist es sinnvoll zu prüfen, ob die Aussage auch dann richtig ist, wenn man die ED_{50} auf die SDD_{20} (Dosis, welche eine Diurese von 20 ml/kg 4 h bewirkt) bzw. SDD_{35} (Dosis, welche eine Diurese von 35 ml/kg 4 h bewirkt) bezieht.

	ED_{50} mg/kg	SDD_{20} mg/kg	ED_{50} als n-fache SDD_{20}	SDD_{35} mg/kg	ED_{50} als n-fache SDD_{35}
FUR	19,20 ± 1,85	0,86	22,33 ± 2,15	4,55	4,22 ± 0,41
PIR	4,37 ± 0,30	0,079	55,32 ± 3,80	0,46	9,50 ± 0,65
BUM	2,21 ± 0,11	0,147	15,03 ± 0,75	3,28	0,67 ± 0,30

PIR besitzt also auch die größte therapeutische Breite, bezieht man die ED_{50} auf SDD_{20} bzw. SDD_{35}, wobei der Unterschied zu FUR und BUM ausgeprägter ist, wenn die ED_{50} auf SDD_{35} bezogen ist, als wenn sie auf SDD_{20} bezogen ist; der Vorteil der größeren therapeutischen Breite von PIR gegenüber FUR und BUM gilt also für jede Standard-Dosis innerhalb der experimentell bestimmten Dosis-Wirkungs-Kurven.

Die Gefahr des Auftretens ototoxischer Nebenwirkungen ist also bei BUM größer als bei FUR, bei FUR wiederum größer als bei PIR einzuschätzen.

b) Zeitlicher Verlauf der ototoxischen Wirkung

Bei Applikation von Dosen, die der ED_{50} am nächsten kommen, ist der Eintritt der vollen ototoxischen Wirkung (d.h. Nullwert oder Minimalwert des Standard CAP) bei FUR und PIR rasch, bei BUM verzögert. Die Erholung auf 50 % des Ausgangs-CAP nach vorheriger vollständiger CAP-Unterdrückung dauert bei BUM erheblich länger als bei FUR und PIR.

Für dieses unterschiedliche Verhalten könnte z.B. verantwortlich sein, daß BUM die Blut-Cochlea-Schranke langsamer passiert als FUR und PIR, die Cochlea aber auch langsamer wieder verläßt, also in der Cochlea retiniert wird. Vergleicht man die chemische Struktur von BUM, PIR und FUR (siehe Abb. 3), könnte man auch vermuten, daß der lange aliphatische Rest dem BUM hohe Lipidaffinität verleiht, wodurch es sich in Lipidstrukturen von Membranen anreichern könnte: So würde es einerseits langsamer zum Wirkort gelangen, andererseits länger dort verweilen (unter der Annahme, daß eine Membran der Wirkort der Schleifendiuretica in der Cochlea ist; zumindest für die Niere gilt dies als erwiesen, da dort Ionentransporte gehemmt werden, welche in der Zellmembran lokalisiert sind).

Eine weitere Möglichkeit wäre, daß BUM eine höhere Affinität sowohl zu Plasmaproteinen als auch zu Membranproteinen hat; auch dann würde es nur langsam in die Cochlea diffundieren und länger am Wirkort bleiben, geht man von einem Membranprotein als hypothetischem Receptor aus.

Man könnte nun auch vermuten, daß die langanhaltende ototoxische Wirkung von BUM Folge einer langsameren metaboli-

schen Entgiftung durch die Leber ist; die renale Elimination bei den Versuchstieren war ausgeschaltet, da die Nierengefäße ligiert waren (dies ist insofern von klinischer Relevanz, als eine verschlechterte Nierenfunktion einen wesentlichen prädisponierenden Faktor für das Auftreten von Hörschäden nach Applikation von Schleifendiuretica darstellt; bei den durchgeführten Versuchen bestand allerdings überhaupt keine Nierenfunktion mehr).

c) Diese Vermutung kann jedoch widerlegt werden, setzt man den Verlauf der Serumspiegel der Pharmaka in Beziehung zum Nachlassen der ototoxischen Wirkung. Bei BUM mußte der Serumspiegel auf einen sehr viel geringeren Anteil des Initialspiegels abfallen als bei FUR und PIR, um 50 % des Ausgangs-CAP wieder zu erreichen. Bemerkenswert ist, daß unabhängig von der Höhe des initialen Spiegels offenbar ein kritischer Serumspiegel unterschritten werden muß, damit 50 % des Ausgangs-CAP wieder erreicht werden. Dieser kritische Serumspiegel ist besonders scharf bei PIR (25,4 µg/ml - 28 µg/ml) und BUM (2,5 µg/ml - 4,7 µg/ml), weniger deutlich dagegen bei FUR (99 µg/ml - 150 µg/ml).

Daß nach den Zweitinjektionen von FUR (ca. 60 min nach den Erstinjektionen von 15 mg/kg, die in keinem der 3 Versuche eine vollständige CAP-Unterdrückung bewirken) die Erholung auf 50 % des Ausgangs-CAP bei ähnlichen Serumspiegeln erreicht war wie in den übrigen Versuchen, läßt vermuten, daß die Erstinjektion keinen permanenten Schaden gesetzt hat, oder anders ausgedrückt, daß die ototoxische Wirkung der Erstinjektion von FUR voll reversibel war. Andererseits ist nicht ausgeschlossen, daß ein permanenter Schaden erst nach einer längeren Latenzzeit eintritt.

d) Beeinflussung der Kreislaufregulation durch FUR, PIR und BUM:

Nur in zwei Versuchen mit FUR und PIR (OT-1 FUR und OT-58 PIR) wurde ein starker Blutdruckanstieg beobachtet, der als Wirkung des Pharmakons interpretiert werden kann: zu bedenken ist, daß während und kurz nach der Injektion die schalldichte Kammer geöffnet ist und an Venen- und Arterienkatheter manipuliert wird; so können Blutdruckschwankungen kleineren Ausmaßes auftreten. Im Versuch OT-1 (FUR) wurden 20 mg/kg als Stoßinjektion appliziert, im Versuch OT-58 (PIR) war der Ausgangsblutdruck sehr niedrig.
Bei BUM wurde in 3 Versuchen ein kontinuierlicher langsamer Blutdruckabfall nach der Injektion beobachtet; in diesen Versuchen war die applizierte Dosis hoch (3,28 mg/kg in 2 Versuchen; 2,62 mg/kg in 1 Versuch), die Beobachtungszeit nach Injektion des Pharmakons lange (260 min und länger).

Untersuchungen an Rattenaorta und- portalvene (BIAMINO, HUCKAUF, 1980) zeigten, daß BUM und besonders PIR bereits in niedrigen Konzentrationen einer Abnahme der mittleren Spannung der Aorta bewirken, FUR dagegen selbst in hohen Konzentrationen von 1 mmol kaum relaxierend wirkt. An der Portalvene wirken alle 3 Pharmaka relaxierend, auch hier ist die Wirkung von FUR am schwächsten; BUM bewirkt in niedrigen Konzentrationen eine deutliche Zunahme der mechanischen Spannung. PHILIPP und DISTLER (1980) berichten, daß durch FUR die Gefäßreagibilität der Rattenaorta gegenüber Noradrenalin vermindert wird; sie konnten zeigen, daß diese Wirkung nicht durch Blockade der Noradrenalinrezeptoren zustandekommt.

2) Vorversuche mit FUR, PIR und BUM

In den Vorversuchen war die Tendenz zu sehen, daß die

ototoxische Wirkung von FUR, PIR und BUM weniger ausgeprägt ist, wenn die Gesamtdosis in mehreren kleineren Dosen appliziert wird oder kontinuierlich über einen längeren Zeitraum hinweg. Dies ist ein Gesichtspunkt, der Bedeutung hat im Hinblick auf die klinische Anwendung dieser Substanzen. Wenn auch noch nicht streng bewiesen ist, daß protrahierte Gaben dieser Pharmaka die Gefahr des Auftretens ototoxischer Wirkungen reduzieren, so scheint es dennoch empfehlenswert, höhere Dosen von FUR, PIR und BUM langsam, z.B. als Dauerinfusion zu applizieren.

3) Vorversuche mit OZO und AZO

Es konnte gezeigt werden, daß das diuretisch wirksame (-) OZO auch ototoxisch ist, das gleiche gilt für das Racemat. (+) OZO, welches nicht diuretisch wirksam ist, ist auch nicht ototoxisch. Dies ist ein Hinweis darauf, daß in der Cochlea gleichartige Ionentransportsysteme wie im aufsteigenden Ast der Henle'schen Schleife vorkommen.

Eine Stereospezifität der Hemmung von Ionenflüssen durch Schleifendiuretica wurde auch an Truthahn-Erythrozyten beobachtet; hier wurde die Wirkung von Ethacrynsäure-Cystein auf den ^{86}Rb (gleichwertig mit K^+)-Einstrom in die Zelle untersucht. Ethacrynsäure (L)-Cystein hemmte den K^+-Einstrom ca. 270 mal stärker als Ethacrynsäure(D)-Cystein (PALFREY und GREENGARD, 1981); wie bei OZO existiert also auch bei Ethacrynsäure-Cystein eine Stereospezifität der Hemmwirkung. Wie später noch ausführlicher diskutiert werden wird, hemmen Schleifendiuretica Ionentransporte an verschiedensten Zellen, es handelt sich also offenbar um einen weitverbreitet vorkommenden Ionentransport; dies wirft die Frage auf, warum die Wirkung der Schleifendiuretica ausgerechnet an Niere und Innenohr zu Tage tritt. Obwohl nicht ototoxisch, scheint (+) OZO doch die Funktion des Innenohrs zu beeinflussen: nach Injektion

von 625 mg/kg resultierte ein Anstieg von CAP, CM^+ und CM^-. Die vergrößerte Amplitude des CAP könnte Ausdruck einer erhöhten Spontanaktivität der Einzelfasern sein, wie sie häufig nach Applikation von FUR beobachtet wurde (EVANS und KLINKE, 1974, 1982,b), die Vergrößerung von CM^+ und CM^- läßt vermuten, daß (+) OZO auch an der Haarzelle selbst angreift. In einem anderen Versuch mit (+) OZO (400 mg/kg), in dem offensichtlich eine fortgeschrittene Racemisierung von (+) OZO eingetreten war, war gleichzeitig mit der Reduktion des CAP ein Anstieg von CM^+ und CM^- zu beobachten. Dies zeigt, daß nicht nur die Amplitude Spitze-Spitze des CM, sondern auch die Einzelkomponenten CM^+ und CM^- kein zuverlässiger Indikator für ototoxische Wirkungen sind.

Auch AZO besitzt ototoxische Wirkungen. Bei einer Dosis von 10 mg/kg dauerte die Erholung lange (104 min), außerdem verlief sie wellenförmig, was auch bei einem OZO-Versuch beobachtet wurde (OT 18, 190 mg/kg). Ursache könnte ein enterohepatischer Kreislauf von AZO bzw. OZO sein, dementsprechend würde der Serumspiegel wellenförmig verlaufen; es könnten dann auch die Innenohrspiegel wellenförmig verlaufen, was jedoch nicht zwingende Folge ist.

Sowohl OZO als auch AZO zeigten Auswirkungen auf Kreislauf- und Atmungsregulation. Die Atemdepression, welche bei Injektion von 30 mg/kg AZO auftrat, gleicht der nach Überdosierung von Barbiturat, gleichzeitig trat ein starker Blutdruckabfall auf. Sowohl OZO (190 mg/kg; OT-18) als auch (+) OZO (625 mg/kg, OT 26) bewirkten starken Blutdruckabfall während der Injektion. Gleichzeitig traten deutlicher pCO_2-Anstieg, gefolgt von pCO_2-Abfall bei OZO bzw. pCO_2-Abfall bei (+) OZO auf. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß nach Untersuchungen von KINNE et al. (1981) Ozolinon den oxydativen Zellstoffwechsel hemmt. Der Beeinflussung der Kreislaufregulation durch OZO und AZO kann ein zentraler oder peripherer Angriffspunkt zugrundeliegen; darüber kann nur spekuliert werden.

4) Allgemeine Diskussion über den Wirkungsmechanismus ototoxischer Schleifendiuretica unter Mitberücksichtigung der eigenen Befunde

Solange nichts Gegenteiliges bewiesen ist, kann man annehmen, daß der grundsätzliche Wirkungsmechanismus der Schleifendiuretica in der Cochlea der gleiche ist wie in der Niere.

Wirkungsort der Schleifendiuretica in der Niere ist der aufsteigende Teil der Henle'schen Schleife. Untersuchungen von BURG und GREEN (1973) an isolierten Tubuli von Kaninchen zeigten, daß dort Cl^- aktiv resorbiert wird. FUR hemmt die Elektrolytresorption in diesem Segment und bewirkt eine erhöhte Ausscheidung von Cl^-, Na^+, K^+, Ca^{++} und Mg^{++} (BURG et al., 1973).

Es gibt heute zwei grundlegende Modellvorstellungen vom Elektrolyttransport am aufsteigenden Teil der Henle-Schleife: Das Modell eines Na^+-Cl^--Cotransports an der luminalen Membran: die an der basolateralen Membran der Tubuluszelle befindliche Na^+/K^+-ATPase hält eine niedrige intrazelluläre Na^+-Konzentration aufrecht. Der dadurch an der luminalen Membran bestehende Na^+-Gradient wird als treibende Kraft für den Cl^--Transport vom Lumen in die Zelle angesehen. FUR, BUM und (-) OZO hemmen diesen Cotransport, nicht dagegen die Na^+/K^+-ATPase, welche durch Ouabain gehemmt wird (KINNE et al., 1981). Erweitert man dieses Modell dahingehend, daß pro Na^+ 2 Cl^--Ionen in die Zelle transportiert werden, und daß K^+, welches entsprechend dem durch die Na^+/K^+-ATPase aufgebauten K^+-Gradienten von der Zelle ins Lumen diffundiert, rezirkuliert, kommt man zu dem von GECK et al (1981) vorgeschlagenen Modell eines Na^+- , K^+- , Cl^--Cotransports, der diese Ionen im Verhältnis 1:1:2 in die Zelle transportiert. Dieser Transport-Mechanismus wird durch FUR, PIR, BUM und OZO gehemmt (GECK et al., 1981). Sowohl Na^+/Cl^- als auch $Na^+/K^+/Cl^-$-Cotransporte wurden

schon an den verschiedensten Zellen gefunden (Übersicht bei FRIZZELL et al., 1979).

Über Ionentransportmechanismen in der Cochlea ist so gut wie nichts bekannt. Bei Aktivierung der Fasern des gekreuzten olivocochleären Bündels (COCB), welche fast ausschließlich an den äußeren Haarzellen enden, steigt vermutlich die Permeabilität der basalen Haarzellmembran für Ionen wie K^+ und Cl^- (DESMEDT und ROBERTSON, 1975), wodurch eine Hyperpolarisation der Zelle eintritt, da sich das intrazelluläre Potential dem K^+- bzw. Cl^--Gleichgewichtspotential nähert (FEX, 1973). Durch den verringerten Membranwiderstand ist auch der lokale Widerstand für die CM-Ströme kleiner, so daß an anderen Stellen des Stromkreises größere Spannungen aufgebaut werden können (KLINKE und GALLEY, 1974). Tatsächlich steigt bei Stimulierung der Fasern des COCB das CM an, während gleichzeitig die Amplitude des CAP verkleinert ist (FEX, 1959). Die Wirkung auf das CAP ist so erklärbar, daß der Strom für die Erregungsübertragung an der afferenten Synapse an der efferenten Synapse kurzgeschlossen wird, außerdem macht die Hyperpolarisation der Haarzelle eine Aktivierung der afferenten Synpase weniger wahrscheinlich (KLINKE und GALLEY, 1974). Schleifendiuretica heben den hemmenden Effekt der COCB-Stimulierung auf das CAP auf (COMIS und PRATT, 1979). Einzelfaserableitungen der primär afferenten Fasern zeigen einen Sensitivitätsverlust (WIEDERHOLD, 1970) und eine Verschlechterung der Tuning-Eigenschaft (KIANG et al., 1970) bei Stimulierung des COCB. Bei drei der mit FUR durchgeführten Versuche wurde ein Anstieg von CM^+ und CM^- durch die Injektion von FUR bewirkt; das CAP fiel gleichzeitig auf Null (OT 14, OT 34) bzw. auf 65 % des Ausgangswertes (OT-30) ab. Auch bei einem Versuch mit OZO (OT 24) resultierte nach Injektion des Pharmakons ein Anstieg von CM^+ und CM^-, gleichzeitig fiel das CAP auf 10 % des Ausgangswertes ab. Durch Schleifendiuretica könnte eine an der basalen Haarzellmembran lokalisierte

Ionenpumpe gehemmt werden, welche K^+ und Cl^- ins Zellinnere zurückbefördert. EVANS und KLINKE (1974, 1982,b) beobachteten nach Applikation von FUR, daß nur CM^+ reduziert war, während CM^- unverändert war oder sogar anstieg; in vielen Fällen resultierte eine erhöhte Spontanaktivität der Einzelfasern; auch diese Befunde lassen vermuten, daß Schleifendiuretica auch an der Haarzelle selbst angreifen. Dafür spricht auch die Veränderung des SP nach Anwendung von FUR (SYKA und MELICHAR, 1981) oder EA (ARAN und de SAUVAGE, 1977). In einem Versuch mit BUM (OT 46) wurde während der Injektion eine Vergrößerung der CAP-Amplitude beobachtet, später fiel das CAP auf 65 % des Ausgangswertes ab; auch dieser Befund könnte als erhöhte Spontanaktivität der Einzelfasern interpretiert werden. Befunde von COMIS et al. (1981), die die Wirkung von FUR, PIR und BUM auf die Eigenschaften von Einzelfasern sowie auf CAP- und CM-Schwelle untersuchten machen deutlich, daß alle drei Pharmaka mit großer Wahrscheinlichkeit gleichartig wirken.

Erwiesen ist, daß die Stria vascularis ein Angriffspunkt der Schleifendiuretica ist. Histologische Untersuchungen zeigen, daß nach Anwendung von EA, FUR, PIR und BUM pathologische Veränderungen an den Zellen der Stria vascularis auftreten (QUICK und DUVALL, 1970; BRUMMET et al., 1977; SANTI und DUVALL, 1979; PIKE und BOSHER, 1980; LIM und FREILICH, 1981): interzelluläres Ödem zwischen den Marginalzellen, die Zwischenzellen atrophieren. Folgerichtig scheint daher zu sein, daß nach Applikation von EA oder FUR das EP rasch auf negative Werte abfällt (KUSAKARI et al., 1978; JUHN et al., 1981; SYKA und MELICHAR, 1981).

Auch die K^+-Konzentration in der Endolymphe fällt mit dem EP ab, jedoch erholt sie sich langsamer (SYKA und MELICHAR, 1981). Die Prozesse, welche für die Aufrechterhaltung des EP verantwortlich sind, scheinen also weniger empfindlich gegenüber Schleifendiuretica als die Prozesse, welche die hohe K^+-Konzentration in der Endolymphe aufrechterhalten (s.a. BOSHER, 1980). BRUSILOW und GORDES

(1973) zeigten, daß das EP scheinbar unabhängig ist von den K^+- und Na^+-Gradienten zwischen Endo- und Perilymphe: nach Injektion von EA beim Hund änderte sich signifikant die K^+- und Na^+-Konzentration der Endolymphe, das EP blieb unverändert. Durch EA ausgelöste Änderungen der Ionenzusammensetzung scheinen spezies-spezifisch: Bei Katze und Ratte resultieren nur geringe Veränderungen (Lit. bei BROWN und FELDMAN, 1978). BRUSILOW (1976) beobachtete, daß Propranolol die durch FUR ausgelösten Änderungen der Ionenzusammensetzung der Endolymphe aufhob, das reduzierte EP blieb dagegen unbeeinflußt. BOSHER (1980) zeigte, daß durch EA aktive und passive K^+-Ionenflüsse gleichzeitig gehemmt werden können, so daß der K^+-Spiegel in der Endolymphe unverändert sein könnte, das EP aber gleichzeitig, da von aktivem K^+-Transport abhängig, abfallen würde. Auch BRUSILOW (1976) beobachtete, daß das EP bereits bei einer Dosis von 30 mg/kg FUR signifikant abfiel, die K^+- und Na^+-Spiegel in der Endolymphe sich jedoch erst ab Dosen von 50 mg/kg FUR signifikant änderten.

JUHN et al. (1981) zeigten am Chinchilla, daß ein kritischer Perilymphspiegel für FUR existiert, bei dessen Überschreiten eine Reduktion des EP eintritt. Bei Applikation verschiedener Dosen FUR stellte sich ein nahezu konstanter Serum/Perilymphe-Gradient für FUR von 65:1 ein. JUHN et al. (1981) stellten fest, daß die Passage von Molekülen durch die Blut-Perilymph-Schranke in umgekehrtem Verhältnis zum Molekulargewicht steht. Dadurch könnte das Innenohr vor dem Zutritt von Substanzen geschützt sein, die bei systemischer Anwendung nicht, bei lokaler jedoch sehr wohl ototoxische Wirkungen entfalten.

Es wäre denkbar, daß die durch Schleifendiuretica ausgelösten Effekte auf Stria vascularis und EP durch Hemmung von in der Stria vascularis lokalisierten Enzymen oder durch Beeinflussung des Energiestoffwechsels in der Stria vascularis zustandekommen. Zwei Enzyme der Stria vascula-

ris stehen im Mittelpunkt des Interesses, nämlich Na^+/K^+-ATPase und Adenylatcycalse. PALOHEIMO und THALMANN (1977) vermuten, daß Na^+/K^+-ATPase Angriffspunkt für EA ist, Adenylatcyclase für EA und FUR. MARKS und SCHACHT (1981) stellten eine Hemmung beider Enzyme durch EA fest, dagegen fanden sie unterhalb einer Konzentration von 1 mM keinen Effekt von FUR, PIR oder BUM auf eines der beiden Enzyme. Diese Befunde stehen in guter Übereinstimmung mit Untersuchungen über die Wirkung von FUR auf die renale Adenylatcyclase (JAKOBS et al., 1972; MARUMO und MISHINA, 1978): auch diese wird unterhalb einer Konzentration von 1 mM FUR nicht gehemmt.

An der Rattenniere bewirkt FUR, allerdings in hoher Dosierung von 50 mg/kg i.v., einen Anstieg des Gewebsspiegels von cAMP. Da bereits eine Dosis von 0,5 mg/kg stark diuretisch wirkt, jedoch keine Änderung des cAMP-Spiegels hervorruft, kann die diuretische Wirkung von FUR nicht mit einem Anstieg von cAMP erklärt werden (OSSWALD et al., 1977). Auch die renale Na^+/K^+-ATPase wird durch FUR nicht gehemmt: FUR hemmt die tubuläre Na^+-Resorption, verändert jedoch nicht den O_2-Verbrauch (FÜLGRAFF et al., 1969), im Gegensatz dazu nimmt bei Applikation von Herzglycosiden die resorbierte Na^+-Menge in der Niere parallel mit dem O_2-Verbrauch ab, was mit einer Hemmung der Na^+/K^+-ATPase erklärbar ist (FÜLGRAFF et al., 1970).

Beeinflussung des Energiestoffwechsels: THALMANN et al. (1973/1975) stellten fest, daß die Stria vascularis einen hohen Energieverbrauch hat, jedoch nur geringe Energiereserven; umgekehrt verhält es sich im Corti-Organ. Während Ischämie fällt der ATP-Spiegel in der Stria vascularis rasch ab, im Corti-Organ nur langsam (THALMANN, 1972); daraus wurde gefolgert, daß im Corti-Organ die Energiebereitstellung durch die Glykolyse überwiegt; da dieser Stoffwechselweg zwar schnell Energie bereitstellt, jedoch im Vergleich zur aeroben Glucoseverwertung wenig effizient

ist, sind hohe Energiereserven erforderlich. Die Wirkung von FUR und EA auf den Vorrat an energiereichen Phosphaten in der Stria vascularis untersuchten KUSAKARI et al. (1978). EA (50 mg/kg i.v.) bewirkte einen leichten Abfall des ATP-Spiegels, P-Creatinin war unverändert; zur gleichen Zeit war das EP auf einen Minimal-Wert abgefallen. Nach Applikation von FUR (50 mg/kg i.v.) war zum Zeitpunkt der maximalen EP-Unterdrückung der ATP- und P-Creatinin-Spiegel unverändert. Da in der Stria vascularis die oxydative Energiegewinnung offenbar überwiegt, lassen die Befunde von KUSAKARI vermuten, daß der oxydative Stoffwechsel in der Stria vascularis durch Schleifendiuretica nicht wesentlich beeinflußt wird.

LITERATURVERZEICHNIS

ADRIAN, E.D. (1931)
The microphonic action of the cochlea:
an interpretation of Wever and Bray's experiments.
J. Physiol. (Lond.) 71, XXVIII - XXIX

ALLEN, J.B. (1980)
Cochlear micromechanics - a physical model of
transduction.
J. Acoust. Soc. Am. 68, 1660 - 1670

ANTOLI-CANDELA, F. Jr. and KIANG, N. Y.-S. (1978)
Unit activity underlying the N_1 potential of the
cochlea.
In: Evoked Electrical Activity in the Auditory Nervous
System (eds. R.F. Naunton and C. Fernandez),
pp. 165 - 189
Academic Press, New York and London

ARAN, J.M. and DE SAUVAGE, C. (1977)
Evolution of CM, SP and AP during ethacrynic acid in-
toxication in the guinea pig.
Acta Otolar. 83, 153 - 159

VON BÉKÉSY, G. (1952)
DC resting potentials inside the cochlear partition.
J. Acoust. Soc. Am. 24, 72 - 76

VON BÉKÉSY, G. (1960)
Experiments in Hearing.
Wiley, New York

BERENDES, J., LINK, R., ZÖLLNER, F. (Hg.)
Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Band III, Teil 1.
Georg Thieme, Stuttgart, 1965

BIAMINO, G., HUCKAUF, H. (1980)
Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Diu-
retika auf die mechanische und elektrische Aktivität
der isolierten Gefäßmuskulatur. In: Diuretica,
herausgeg. von J. Rosenthal, H. Knauf.
edition medizin, Weinheim

BOSHER, S.K. (1980)
The nature of the ototoxic actions of ethacrynic acid
upon the mammalian endolymph system.
Acta Otolar. 90, 40 - 54

BOSHER, S.K. and WARREN, R.L. (1968)
Observations of the electrochemistry of the cochlear
endolymph of the rat.
Proc. Roy. Soc. B, 171, 227 - 247

BOSHER, S.K., SMITH, C. and WARREN, R.L. (1973)
The effects of etacrarynic acid upon the cochlear endo-
lymph and stria vascularis.
Acta Otolar. 75, 184 - 191

BRATER, D.C. (1979)
Renal sites of action of azosemide.
Clin. Pharmacol. Ther. 25, 428 - 434

BROWN, D.R., FELDMAN, A.M. (1978)
Pharmacology of Hearing and Ototoxicity.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 18, 233 - 252

BRUMMET, R.E., TRAYNOR, J., BROWN, R. and HIMES, D. (1975)
Cochlear damage resulting from kanamycin and furosemide.
Acta Otolar. 80, 86 - 92

BRUMMET, R., SMITH, C.A., UENO, Y., CAMERON, S., RICHTER, R. (1977)
The delayed effects of ethacrynic acid on the stria vascularis of the guinea pig.
Acta Otolar. 83, 98 - 112

BRUSILOW, S.W. (1976)
Propranolol antagonism to the effect of furosemide on the composition of endolymph in guinea pigs.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 54, 42 - 48

BRUSILOW, S.W. and GORDES, E. (1973)
The mutual independence of the endolymphatic potential and the concentrations of sodium and potassium in endolymph.
J. Clin. Invest. 52, 2517 - 2521

BURG, M.B., GREEN, N. (1973)
Function of the thick ascending limb of Henle's loop.
Am. J. Physiol. 224, 659

BURG, M., STONER, L., CARDINAL, J., GREEN, N. (1973)
Furosemide effect on isolated perfused tubules.
Am. J. Physiol. 225, 119

CHOU, J.T.Y and HUGHES, D.E.
In: S. Rauch, Ed.: Biochemie des Hörorgans.
Thieme, Stuttgart, 1964, p. 446

COMIS, S.D. and PRATT, S.R. (1979)
The effect of sulfamyl loop diuretics on the crossed olivo-cochlear bundle.
Neuropharmacol. 18, 739 - 741

COMIS, S.D., LENG, G. and PRATT, S.R. (1981)
The effects of furosemide, bumetanide and piretanide on the guinea pig cochlea and auditory nerve.
In: Ototoxic side effects of diuretics (R. Klinke, W. Lahn, H. Querfurth, J. Scholtholt, eds.)
Scand. Audiology, Suppl. 14

COREY, D.P. and HUDSPETH, A.K. (1979)
Ionic basis of the receptor potential in a vertebrate hair cell.
Nature 281, 675 - 677

CRAWFORD, A.C. and FETTIPLACE, R. (1979)
Reversal of hair cell responses by current.
J. Physiol. 295, 66 p.

DALLOS, P. (1973a)
The Auditory Periphery.
Academic Press, New York and London

DALLOS, P. (1973b)
Cochlear potentials and cochlear mechanics.
In: Basic Mechanism in Hearing (ed. A. Moller), pp. 335 - 372
Academic Press, New York and London

DAVIS, H. (1965)
A model for transducer action in the cochlea.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 30, 181 - 189

DAVIS, H. (1968)
Mechanisms of the inner ear.
Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 77, 644 - 655

DESMEDT, J.E. and ROBERTSON, D. (1975)
Ionic mechanism of the efferent olivo-cochlear inhibition studied by cochlear perfusion in the cat.
J. Physiol. 247, 407 - 428

ELDREDGE, D.H. (1974)
Inner ear-cochlear mechanics and cochlear potentials.
In: Handbook of Sensory Physiology Vol. 5/1 (eds. W.D. Keidel and W.D. Neff), pp. 549 - 584
Springer, Berlin

ENGSTRÖM, H., ADES, H.W. and HAWKINS, J.E. (1965)
Cellular pattern, nerve structures and fluid spaces of the organ of Corti.
In: Contribution to Sensory Physiol. Vol. 1 (ed. W.D. Neff), pp. 1 - 37
Academic Press, New York

EVANS, E.F. (1972)
The frequency response and other properties of single fibres of the guinea-pig cochlear nerve.
J. Physiol. 226, 263 - 287

EVANS, E.F. (1974)
The effects of hypoxia on the tuning of single cochlear nerve fibres.
J. Physiol. 238, 65 - 67

EVANS, E.F. (1975)
The sharpening of cochlear frequency selectivity in the normal and abnormal cochlea.
Audiology 14, 419 - 442

EVANS, E.F., KLINKE, R. (1974)
Reversible effects of cyanide and furosemide on the tuning of single cochlear nerve fibres.
J. Physiol. 242, 129 - 130

EVANS, E.F., KLINKE, R. (1982,a)
The effects of intracochlear cyanide and tetrodotoxin on the properties of single cochlear nerve fibres in the cat.
J. Physiol. 331, 385 - 408

EVANS, E.F., KLINKE, R. (1982,b)
The effects of intracochlear and systemic furosemide on the properties of single nerve fibres in the cat.
J. Physiol. 331, 409 - 427

FEDERSPIL, P. (1978)
Die klinische Ototoxizität und ihre Prophylaxe.
In: Physiolog und pharmakolog. Grundlagen der Therapie, Berliner Seminar 2, herausgeg. von K. Hierholzer und N. Rietbrock, Vieweg, Braunschweig

FELDMAN, A.M. and BRUSILOW, S.W. (1976)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981
Proc. Nat. Acad. Sci. 73, 1761

FEX, J. (1959)
Augmentation of the cochlear microphonics by stimulation of efferent fibres to cochlea.
Acta Otolar. 50, 540 - 541

FEX, J. (1973)
Neuropharmacology and potentials of the inner ear.
In: Basic Mechanisms in Hearing (ed. A. Moller), pp. 377 - 420
Academic Press, New York and London

FEX, J. (1974)
Neural excitatory processes of the inner ear.
In: Handbook of Sensory Physiology Vol. 5/1 (eds. W.D. Keidel and W.D. Neff), pp. 585 - 646
Springer, Berlin

FINLAYSON, L.H and OSBORNE, M.P. (1975)
Secretory activity of neurons and related electrical activity.
Adv. Comp. Physiol. and Biochem. 6, 165 - 258

FRIZZELL, R.A., FIELD, M., SCHULTZ, S.G. (1979)
Zit. nach Palfrey and Greengard in: Hormonal regulation of epithelial transport of ions and water, edited by W.N. Scott and D.B.P. Goodman, Annals of the New York Academy of Sciences Vol. 372 (1981)
Am. J. Physiol. 236, F1 - F8

FÜLGRAFF, G., WOLF, K., ADELMANN, J., KRIEGER, A.-K. (1969)
Zum Wirkungsmechanismus von Diuretica.
Die Wirkung von Furosemid auf den O_2-Verbrauch der Niere.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. exp. Path. 263, 485

FÜLGRAFF, G., BIEG, A., WOLF, K. (1970)
Der renale Sauerstoffverbrauch nach Strophantin und 6-Aminonicotinamid.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 266, 43

GECK, P., HEINZ, E., PFEIFFER, B. (1981)
Influence of high ceiling diuretics on ion fluxes and cell volume of Ehrlich ascites tumour cells.
In: Ototoxic side effects of diuretics (R. Klinke, W. Lahn, H. Querfurth, J. Scholtholt, eds.)
Scand. Audiology, Suppl. 14

GÖTTL, K.-H. (1980)
Das Verhalten der cochleären Mikrophonpotentiale und des Summationspotentials des Säugers (Katze) während Sauerstoffmangels.
Doctoral dissertation, Frankfurt/M.

GÖTTL, K.-H., KLINKE, R. (1977)
Differential susceptilibity of positive- and negative-going portion of microphonics to anoxia.
In: Inner Ear Biology, M. Portmann and J.M. Aran (eds.) 68, 103 - 104
INSERM, Paris

GREVEN, J., HEIDENREICH, O. (1980)
Zur Frage der Stereospezifität von Diureticawirkungen anhand des Beispiels von Ozolinon.
In: Diuretica, herausgeg. von J. Rosenthal, H. Knauf. edition medizin, Weinheim

HEIDENREICH, D., GREVEN, J., HEINTZE, K. (1982)
Molecular Actions of Diuretics.
Klin. Wochenschrift 60, 1258 - 1263

HERBERT, D.A., MITCHELL, R.A. (1971)
Blood gas tensions and acid-base balance in awake cats.
J. Appl. Physiol. 30, 434 - 436

HOSHINO, T. (1974)
Relationship of the Tectorial Membrane to the Organ of Corti.
Arch. Histol. Jap. 37, 25

HUDSPETH, A.J. and COREY, D.P. (1977)
Sensitivity, polarity and conductance change in the response of vertebrate hair cells to controlled mechanical stimuli.
Proc. Natl. Acad. Sci. 74, 2407 - 2411

ILBERG, Ch. v. and VOSTEEN, K.H. (1969)
Permeability of the inner-ear membranes.
Acta Otolar. 67, 165 - 170

JAKOBS, K.H., SCHULTZ, K, SCHULTZ, G. (1972)
Hemmung von Adenylatcyclase-Präparaten aus der Rattenniere durch Calciumionen und verschiedene Diuretica.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 273, 248 - 266

JOHNSON, R.L. and SPOENDLIN, H.H. (1966)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981
Ann. Otolaryngol 75, 127

JOHNSTONE, B.M. and SELLICK, P.M. (1972)
The peripheral auditory apparatus.
Quart. Revs. Biophys. 5, 1 - 57

JUHN, S.K., PEARCE, J. and GUZOWSKI, J. (1976)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981
Arch. Otorhinolaryngol. N.Y., 212, 213

JUHN, S.K., RYBAK, L.P., MORIZONO, T., GREEN, L.P. (1981)
Pharmacokinetics of furosemide in relation to the alteration of endocochlear potential.
In: Ototoxic side effects of diuretics (R. Klinke, W. Lahn, H. Querfurth, J. Scholtholt, eds.)
Scand. Audiol. Suppl. 14

KELLERHALS, B. (1976)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981.
Otorhinolar. 38, 193

KHANNA, S.M. and LEONHARD, D.G.B. (1982)
Basilar membrane tuning in the cat cochlea.
Science Vol. 215, 305 - 306

KIANG, N.Y.S. (1965)
Discharge patterns of single fibres in the cat's auditory nerve.
Researchmonograph Nr. 35, MIT Press, Cambridge (Mass.)

KIANG, N. Y.-S., MOXON, E.C. and LEVINE, R.A. (1970)
Auditory-nerve activity in cats with normal and abnormal cochleas.
In: Sensorineural Hearing Loss (eds. G.E.W. Wolstenholme and J. Knight), pp. 241 - 268.
CIBA Foundation Symposium, Churchill, London

KINNE, R., KINNE-SAFFRAN, E., KOENIG, B., BAYERDOERFFER, E., EVELOFF, J. (1981)
Control mechanisms in active chloride transport.
In: Ototoxic side effects of diuretics (R. Klinke, W. Lahn, H. Querfurth, J. Scholtholt, eds.)
Scand. Audiology, Suppl. 14

KLINKE, R. (1978)
Der Einfluß ototoxischer Pharmaka auf das Gehör: Morphologie und Physiologie.
In: Berliner Seminar 2, Physiolog. and pharmakolog. Grundlagen der Therapie (herausgeg. von K. Hierholzer, N. Rietbrock), Vieweg, Braunschweig

KLINKE, R. and GALLEY, N. (1974)
Efferent innervation of vestibular and auditory receptors.
Physiol. Revs. 54, 316 - 357

KLINKE, R., EVANS, E.F. (1977)
Evidence that Catecholamines are not the afferent transmitter in the cochlea.
Exp. Brain Res. 28, 315 - 324

KONISHI, T. and YASOUNO, T. (1963)
Summating potential of the cochlea in the guinea pig.
J. Acoust. Soc. Am. 35, 1448 - 1452

KUIJPERS, W. and BONTING, S.L. (1969)
Studies on the (Na^+ - K^+)-activated ATPase.
XXIV. Localization and properties of ATPase in the inner ear of the guinea pig.
Biochem. Biophys. Acta 173, 477 - 485

KUSAKARI, J., ISE, I., COMEGYS, T.H., THALMANN, I. and THALMANN, R. (1978)
Effect of etacrynic acid, furosemide, and ouabain upon the endolymphatic potential and upon high energy phosphates of the stria vascularis.
Laryngoscope 88, 12 - 37

LIBERMAN, M.C. and KIANG, N. Y.-S. (1978)
Acoustic trauma in cats.
Acta Otolar., Suppl. 358, 1 - 63

LIM, D.J. and FREILICH, I.W. (1981)
Ultrastructure of the stria vascularis, vestibular dark cells and endolymphatic sac following acute diuretic ototoxicity.
In: Ototoxic side effects of diuretics (R. Klinke, W. Lahn, H. Querfurth, J. Scholtholt, eds.)
Scand. Audiology, Suppl. 14

LLINAS, R. (1979)
The role of calcium in neuronal function.
In: The Neurosciences: Fourth Study Program (eds. F.O. Schmitt and F.G. Worden), pp. 555 - 571.
M.I.T. Press, Cambridge

MAREN, T.H., SWENSON, E.R. and ADDINK, A.D.F. (1975)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Darigneault), Wiley, New York, 1981.
Ann. Otol. 84, 847

MARKS, S.C. and SCHACHT, J. (1981)
Effects of ototoxic diuretics on cochlear Na^+/K^+-ATPase and adenylate cyclase.
In: Ototoxic side effects of diuretics (R. Klinke, W. Lahn, H. Querfurth, J. Scholtholt, eds.)
Scand. Audiology, Suppl. 14

MARUMO, F. and MISHINA, T. (1978)
Effects of ethacrynic acid and furosemide on the hormone-mediated adenylate cyclase activation on the hamster kidney.
Endocrinol. Japon. 25, 423 - 430

MORGENSTERN, C., JUHN, S.K. (1980)
Effects of a new diuretic agent (Ozolinon) on the inner ear.
17th Workshop on Inner Ear Biology, Stockholm, p. 65

MORRISON, D., SCHINDLER, R.A. and WERSALL, J. (1975)
A quantitative analysis of the afferent innervation of the organ of Corti in guinea pig.
Acta Otolaryng. 79, 11 - 23

MOSCOVITCH, D.H., GANNON, R.P. and LASZLO, C.A. (1973)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981.
Ann. Otol. 82, 53

NAKAI, Y. (1977)
Combined effect of 3',4'-Dideoxy kanamycin B and Potent Diuretics on the Cochlea (A Scanning and Transmission Electron Microscopic Evaluation).
The Laryngoscope 87, 1548 - 1558

OSSWALD, H., HAWLINA, A., CLASEN, U., HEIDENREICH, O. (1977)
Tissue levels of cyclic nucleotides in the rat kidney after administration of furosemide.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 299, 273

PALFREY, H.C., GREENGARD, P. (1981)
Hormone-sensitive ion transport systems in erythrocytes as models for epithelial ion pathways.
In: Hormonal regulation of epithelial transport of ions and water, edited by W.N. Scott and D.B.P. Goodman.
Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 372

PALOHEIMO, S. and THALMANN, R. (1977)
Influence of loop diuretics upon Na^+/K^+ ATPase and adenylate cyclase of the stria vascularis.
Arch. Oto-Rhino-Lar. 217, 347 - 359

PHILIPP, Th., DISTLER, A. (1980)
Diuretica und Gefäßreagibilität.
In: Diuretica, herausgeg. von J. Rosenthal, H. Knauf.
edition medizin, Weinheim

PIERCE, N.P., CARPENTER, C.C.J. and GREENOUGH, W.B. (1971)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981.
Bacteriol. Rev. 35, 1

PIKE, D.A. and BOSHER, S.K. (1980)
The time course of the strial changes produced by intravenous furosemide.
Hearing Res. 3, 79 - 80

QUICK, C.A., DUVALL, A.J. (1970)
Early changes in the cochlear duct from ethacrynic acid: an electronmicroscopic evaluation.
Laryngoscope 80, 954 - 965

QUICK, C.A., HOPPE, W. (1975)
Permanent deafness associated with furosemide administration.
Ann. Otol. 84, 94 - 101

RASMUSSEN, G.L. (1960)
Efferent fibres of the cochlear nerve and cochlear nucleus.
In: G.L. Rasmussen, W.F. Windle (ed.): Neural mechanisms of the auditory and vestibular systems, pp. 105 - 115.
Ch. C. Thomas, Springfield/ILL., USA

REALE, E., LUCIANO, L., FRANKE, K., PANNESE, E., WERMSTER, G. and IURATO, S. (1975)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981
J. Ultrastruct. Res. 53, 284

ROBERTSON, D. and JOHNSTONE, B.M. (1979)
Aberrant tonotopic organization in the inner ear damaged by kanamycin.
J. Acoust. Soc. Am. 66, 466 - 469

ROSE, J.E., HIND, J.E., ANDERSON, D.J. and BRUGGE, J.F. (1971)
Some effects of stimulus intensity on response of auditory nerve fibres in the squirrel monkey.
J. Neurophysiol. 34, 685 - 699

ROSSI, G., CORTESINA, G. (1962)
Jl sistema efferente colinergico cocleo-vestibulare.
Minerva otorinolaring 12, 173

RUSSELL, I.J. and SELLICK, P.M. (1978)
Intracellular studies of hair cells in the mammalian cochlea.
J. Physiol. 284, 261 - 290

RUSSELL, I.J. and SELLICK, P.M. (1981)
The responses of hair cells to low frequency tones and their relationship to the extracellular receptor potentials and sound pressure level in the guinea pig cochlea.
In: Neuronal Mechanisms of Hearing, eds. J. Syka and L. Aitkin.
Plenum Press, New York

SACHS, L. (1974)
Angewandte Statistik.
Springer - Berlin, Heidelberg, New York

SAHYOUN, N. and CUATRECASAS, P. (1975)
Zit. nach A.D. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981.
Proc. Nat. Acad. Sci. 72, 3428

SANTI, P.A. and DUVALL, A.J. (1979)
Morphological alteration of the stria vascularis after administration of the diuretic bumetanide.
Acta otolar. 88, 1 - 12

SCHNIEDER, E.A. (1974)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981.
Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 83, 76

SELLICK, P.M. and BOCK, G.R. (1974)
Evidence for an electrogenic potassium pump as the origin of the positive component of the endocochlear potential.
Pflügers Arch. 352, 351 - 361

SELLICK, P.M. and JOHNSTONE, B.M. (1974)
Differential effects of ouabain and etacrynic acid on the labyrinthine potentials.
Pflügers Arch. 352, 339 - 350

SELLICK, P.M., PATUZZI, R., JOHNSTONE, B.M. (1982)
Measurement of basilar membrane motion in the guinea pig using the Mössbauer-technique.
J. Acoust. Soc. Am. 72, 131 - 141

SILVERSTEIN, H. (1966)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds. R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981.
Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 75, 48

SMITH, C.A. (1978)
Structure of the cochlear duct.
In: Evoked Electrical Activity in the Auditory Nervous System (eds. R.F. Naunton and C. Fernandez), pp 3 - 19.
Academic Press, New York and London

SMITH, C.A., LOWRY, O.H. and WU, M.L. (1954)
The electrolytes of the labyrinthine fluids.
Laryngoscope 64, 141 - 153

SPOENDLIN, H. (1966)
The organization of the cochlear receptor.
Fortschr. Hals-Nasen-Ohrenheilk. 13

SPOENDLIN, H. (1972)
Innervation densities of the cochlea.
Acta Otolar. 73, 235 - 248

SYKA, J., MELICHAR, I. (1981)
Comparison of the effects of furosemide and ethacrynic acid upon the cochlear function in the guinea pig.
In: Ototoxic side effects of diuretics (R. Klinke, W. Lahn, H. Querfurth, J. Scholtholt, eds.)
Scand. Audiol., Suppl. 14

TASAKI, I. (1954)
Nerve impulses in individual auditory nerve fibres of guinea pig.
J. Neurophysiol. 17, 97 - 122

TASAKI, I. and SPYROPOULOUS, C.S. (1959)
Stria vascularis as a source of endocochlear potential.
J. Neurophysiol. 22, 149 - 155

TEAS, D.C., ELDREDGE, D.H., DAVIS, H. (1962)
Cochlear responses to acoustic transients:
An interpretation of whole-nerve action potentials.
J. acoust. Soc. Am. 34, 1438

THALMANN, R. (1972)
Acta Otolar. 73, 160
Zit. nach A.M. Feldman in Pharmacology of Hearing (eds.
R.D. Brown and E. A. Daigneault)
Wiley, New York, 1981

THALMANN, R., KUSAKARI, J., MIYOSHI, T. (1973)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds.
R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981.
Laryngoscope 83, 1690

THALMANN, R., MIYOSHI, T., KUSAKARI, J., ISE, I. (1975)
Zit. nach A.M. Feldman in: Pharmacology of Hearing (eds.
R.D. Brown and E.A. Daigneault), Wiley, New York, 1981.
Otolar. Clin. N. Am. 8, 313

WEVER, E.G. and BRAY, C.W. (1930)
Action currents in the auditory nerve in response to acoustical stimulation.
Proc. Nat. Acad. Sci 16, 344 - 350

WIEDERHOLD, M.L. (1970)
Variations in the effects of electric stimulation of the crossed olivocochlear bundle of cat single auditory-nerve-fiber responses to tone bursts.
J. Acoust. Soc. Am. 48, 966 - 977

ZWISLOCKI, J.J. and KLETSKY, E.J. (1980)
Micromechanics in the theory of cochlear mechanics.
Hearing Res. 2, 505 - 512

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Zahnmedizin der J.W. Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

Elektrophysiologische Untersuchungen über
die ototoxische Wirkung von Schleifendiuretica

im Zentrum der Physiologie der J.W. Goethe-Universität in Frankfurt am Main unter Leitung von Prof. Dr. R. Klinke ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. keinem Fachbereich ein Gesuch um Zulassung der Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main

Herrn Prof. Klinke danke ich für die Überlassung des Themas
und seine Bereitschaft zur Diskussion der Ergebnisse.
Für ihre freundlichen Ratschläge möchte ich allen
Mitarbeitern von Prof. Klinke danken.

Lebenslauf

Geb. 8.7.1956 in Darmstadt als dritter Sohn des Pharmakologen Dr. Egon Roesch und seiner Ehefrau Dr. Androniki Roesch, geb. Apostolides, Pharmakologin.

In Regensburg besuchte ich von 1962 bis 1966 die Volksschule, 1967 bis 1968 das Albrecht-Altdorfer-Gymnasium. 1968 bis 1975 besuchte ich das Karl-Friedrich-Gymnasium in Mannheim, wo ich im Mai 1975 die Reifeprüfung ablegte. Von Juli 1975 bis September 1976 leistete ich meinen Wehrdienst ab, von Oktober 1976 bis Juni 1977 arbeitete ich als Praktikant im Zahntechnischen Labor Teuber, Darmstadt. Im Juni 1977 erhielt ich die Zulassung zum Zahnmedizin-Studium an der J.W. Goethe-Universität, Frankfurt/Main. Die Naturwissenschaftliche Vorprüfung legte ich im Wintersemester 1977/1978 ab, die Zahnärztliche Vorprüfung im Sommersemester 1979, die Zahnärztliche Prüfung im Sommersemester 1982. Seit 1.9.1982 arbeite ich als Assistent in der Zahnarztpraxis von Dr. G. Staudt, Michelstadt.